

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE
MUCÍLAGOS HIDROPÓNICOS DE NOPAL (*Opuntia* spp.) SOBRE
MANZANAS GOLDEN**

PRESENTA

ING. BRENDA LUNA SOSA

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

SEPTIEMBRE, 2019

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE
MUCÍLAGOS HIDROPÓNICOS DE NOPAL (*Opuntia* spp.) SOBRE
MANZANAS GOLDEN**

PRESENTA

ING. BRENDA LUNA SOSA

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**FORMULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES DE
MUCÍLAGOS HIDROPÓNICOS DE NOPAL (*Opuntia* spp.) SOBRE
MANZANAS GOLDEN**

PRESENTA

ING. BRENDA LUNA SOSA

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA
EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR

Dr. Romeo Rojas-Molina
Director

Dr. Humberto Rodríguez-Fuentes
Co-director

Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez-Ávila
Asesor

Dra. Mayra Zulema Treviño-Garza
Asesor

Dr. Ernesto Sánchez-Alejo
Tutor

Ph.D. Juan Antonio Vidales-Contreras
Subdirector de Estudios de Posgrado

ESTA TESIS FUE REALIZADA EN

**Centro de Investigación y Desarrollo de Hidroponía Campus Marín,
Laboratorios de Ingeniería, Química y Bioquímica, Biotecnología Microbiana,
Nutrición Animal y Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad
Autónoma de General Escobedo, Nuevo León, México,**

e

International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL), Braga, Portugal

DEDICATORIA

A la vida, por permitirme escalar un poco más tanto en el ámbito profesional como personal para llevar a cabo mis metas a corto y largo plazo a través de triunfos y fracasos.

A mis padres, Sr. Leonardo Luna Rivera y la Sra. Berta Sosa González les ofrezco con pasión y humildad esta investigación ya que son lo máspreciado que pueda tener. Estoy feliz y orgullosa de tener unos papás como ustedes, valoro sus regaños, consejos, amor y sobre todo la confianza que depositaron en mí aún en la distancia, me hicieron creer que todo es posible cuando me lo proponga. Los amo, siempre están en mi mente y corazón.

A mi novia Sara, por la paciencia, consejos, amor y por todos los momentos que hemos pasado juntas. Le ofrezco mi sincero agradecimiento y regalo ante la finalización de este proyecto de investigación, ya que fue mi gran apoyo durante la realización de la maestría.

A mis hermanos (as). Ceci (la maestra), Ángel (sabelotodo), Ismael (lunático) y Leo (Jon titi) y mis sobrinas Suani y Karen por su amor, compañía, atención y por aceptarme tal como soy. Les amo y admiro a cada uno de ustedes y mis 10 sobrinos restantes que algún día espero motivarlos a cultivar la investigación (Isaac, Frida, Ángel, Leo, Andrés, Fátima, Adrián, Kenya, Ismael y Elyani).

AGRADECIMIENTOS

A la “Universidad Autónoma de Nuevo León”, por darme la oportunidad de formar parte de su alumnado y el conocer personas maravillosas que compartieron su experiencia, conocimientos, tiempo, apoyo y amistad durante mi formación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), al Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT) y a CONAFOR 2018-1-B-S-65769 por el financiamiento otorgado para realizar mis estudios de posgrado y el desarrollo del presente proyecto.

Deseo expresar mi infinito agradecimiento al director de esta tesis maestrial, Dr. Romeo Rojas Molina, por la confianza que depositó en mi y por la valiosa colaboración para la realización de este trabajo, por su inigualable asesoría, por el respeto a mis aportaciones, sugerencias e ideas y por motivar e impulsar la culminación de la investigación.

Al Dr. Humberto Rodríguez Fuentes, por su disposición para la realización de esta investigación, por inculcarme el criterio crítico, por el conocimiento compartido y el apoyo moral que siempre mostró hacía mi.

Al Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila por facilitarme el acceso al Laboratorio de Bioquímica y materiales, siendo de las instalaciones más visitadas y más acogedoras de la Facultad de Agronomía.

A la Dra. Mayra Treviño Garza, por su valiosa colaboración en la realización de esta investigación, por su disponibilidad, amistad, por sus consejos y su tiempo.

A la M.C. Cecilia Castro López, por su interés en ayudarme, compartirme herramientas de útil ayuda y su capacidad al resolver problemas. Además por ser una amiga sincera y solidaria. También a la Ingeniera Cristal Alejandra Ochoa Chantaca por su valiosa colaboración durante la última etapa de esta investigación y su amistad.

Asimismo, agradezo al Dr. Alejandro Isabel Luna Maldonado y al Dr. Elías Treviño Ramírez por la facilitación de distintas fuentes de investigación que fueron útiles para mi proyecto, por la iniciativa que mostró para resolver dudas y consultas sobre metodologías.

Al Dr. Miguel Â. Cerqueira, a la M.C. Gabriela Azevedo y al Dr. Lorenzo M. Pastrana por darme la oportunidad de llevar a cabo una parte de mi proyecto en el Laboratorio Ibérico Internacional de

Nanotecnología, agradezco la amabilidad, paciencia, orientación y enseñanza durante mi estancia en INL. Simplemente agradezco por hacerme sentir en mi segunda casa de investigación.

Al Ing. Fernando Cabrieles Luna, por haber compartido sus conocimientos conmigo y orientarme en lo que desconocía y sobre todo por su tiempo.

A la Dra. Juana Aranda Ruíz por sus valiosas aportaciones, consejos y apoyo durante el último semestre para llevar a cabo los análisis microbiológicos.

Al personal de campo, es especial al Sr. Anselmo y al Sr. Javier por brindarme las facilidades necesarias para las actividades en Hidroponía.

Al departamento de la Facultad de Agronomía y todos los profesores que durante mi estancia en la Universidad contribuyeron en mi formación como Maestra en Ciencias en Producción Agrícola.

A los compañeros del programa de Doctorado en Ciencias en Producción Agrícola de la UANL; Rafa, Dulce, Uziel y Víctor por compartir su conocimiento, ideas y dar aportaciones a mi proyecto. También agradezco su gran amistad y apoyo.

A los compañeros y amigos del programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola de la UANL; Jessica (Jess), Carlos (Mijito) por los momentos compartidos, experiencia, tiempo, un mar de emociones y por motivarme a seguir adelante.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	IX
ÍNDICE DE CUADROS	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XIV
INTRODUCCIÓN	16
HIPÓTESIS	20
Objetivo General	21
Objetivos específicos	21
Capítulo 1. Producción de Biomasa de los cultivares provenientes de <i>Opuntia</i> spp. obtenida bajo condiciones hidropónicas	22
1.1. Resumen	22
1.2. Abstract	22
1.3. Introducción	23
1.4. Materiales y Métodos	25
1.4.1. Localización del sitio experimental	25
1.4.2. Material vegetativo	25
1.4.3. Establecimiento del Sistema Hidropónico	26
1.4.4. Trasplante del material vegetativo y diseño experimental	27
1.4.5. Producción de biomasa	28
1.4.6. Contenido de humedad en nopales	28
1.4.7. Análisis estadístico	29
1.4.8. Resultados y Discusión	29
1.4.9. Pesos de cladodios antes de su trasplante	29
1.4.10. Contenido de humedad	30
1.4.11. Biomasa fresca y seca	30
1.4.12. Brotes nuevos	32
1.4.13. Dimensiones de los brotes	33
1.4.14. Conclusiones	34
1.4.15. Bibliografía	34
Capítulo 2. Extracción y caracterización de mucílago de <i>Opuntia ficus-indica</i> cultivado en un sistema hidropónico	38

2.1. Resumen	38
2.2. Abstract	38
2.3. Introducción	39
2.4. Materiales y Métodos	41
2.4.1. Material biológico	41
2.4.2. Ubicación experimental	41
2.4.3. Extracción de mucílagos	41
2.4.4. Caracterización de mucílagos	42
2.4.5. Análisis fisicoquímico	42
2.4.6. Análisis proximal	42
2.4.7. Determinación del contenido de polifenoles totales	43
2.4.8. Actividad antioxidante	43
2.4.9. Actividad de barrido del radical DPPH	43
2.5. Actividad de eliminación de radicales ABTS	44
2.5.1. Ensayo de poder reductor del ión férrico (FRAP)	44
2.5.2. Cristalinidad y constituyentes de enlace químico en mucílagos	44
2.5.3. Análisis estadístico	45
2.6. Resultados y Discusión	45
2.6. Rendimientos de mucílagos	45
2.6.2. Caracterización de mucílagos	46
2.6.3. Análisis químico y bromatológico	46
2.6.4. Contenido de fenoles	49
2.6.5. Actividad antioxidante a través de ABTS, DPPH y FRAP	50
2.6.6. Cristalinidad y constituyentes de enlace químico en mucílagos	51
2.6.7. Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	51
2.6.8. Fluorescencia de Rayos X	52
2.7. Conclusiones	55
2.8. Bibliografía	56
Capítulo 3. Películas a base de pectina con incorporación de mucílago hidropónico de nopal:	
caracterización fisicoquímica	60
3.1. Resumen	60
3.2. Abstract	60

3.3. Introducción	61
3.4. Materiales y Métodos	62
3.4.1. Ubicación	62
3.4.2. Material biológico	62
3.4.3. Diseño experimental	62
3.4.4. Formulación de películas	63
3.4.5. Caracterización de películas	63
3.4.6. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	63
3.4.7. Resistencia de tracción y Elongación a la rotura	64
3.4.8. Técnicas de muestreo FTIR: Reflectancia total atenuada (RTA)	64
3.4.9. Color y opacidad	64
3.4.10. Contenido de humedad (CH)	65
3.4.11. Solubilidad (S)	65
3.4.12. Análisis termogravimétrico (TGA)	66
3.4.13. Fluorescencia de Rayos X	66
3.4.14. Análisis de ángulos de contacto (AC)	66
3.4.15. Densidad (D)	67
3.4.16. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	67
3.4.17. Análisis estadístico	67
3.5. Resultados y Discusión	68
3.5.1. Apariencia de películas de mucílago de nopal	68
3.5.2. Propiedades físicas de las películas con mucílagos	68
3.5.3. Fuerza de tracción (RT) y rotura de alargamiento (EB)	73
3.5.4. FTIR	74
3.5.5. Color y opacidad	75
3.5.6. Solubilidad	77
3.5.7. TGA	77
3.5.8. Rayos X	81
3.5.9. SEM	82
3.6. Conclusiones	83
3.7. Bibliografía	84
Capítulo 4. Efecto de películas a base de pectina-mucílago de nopal hidropónico sobre la calidad y vida de anaquel de manzana Golden	88

4.1. Resumen	88
4.2. Abstract	88
4.3. Introducción	89
4.4. Materiales y Métodos	91
4.4.1. Material biológico	91
4.4.2. Preparación de películas a base de inmersión	91
4.4.3. Aplicación de las soluciones formadoras de películas sobre las manzanas	92
4.4.4. Análisis microbiológico de las manzanas	92
4.4.5. Preparación y dilución de las muestras	92
4.4.6. Siembra en placa para crecimiento de hongos y levaduras	93
4.4.7. Evaluación sensorial de las manzanas	93
4.4.8. Índice de decaimiento	93
4.4.9. Análisis fisicoquímico de las manzanas con la solución formadora de película	94
4.4.10. Determinación de peso, sólidos solubles, color, firmeza, acidez titulable y Vitamina C	94
4.4.11. Análisis estadístico	94
4.5. Resultados y Discusión	95
4.5.1. Recuento de hongos y levaduras	95
4.5.2. Evaluación sensorial	96
4.5.3. Color, olor, sabor, textura, IDC y aceptación sensorial general	96
4.5.4. Índice de decaimiento	98
4.5.5. Pérdida de peso	99
4.5.6. Sólidos solubles totales	100
4.5.7. Color y pérdida de firmeza	100
4.5.8. pH, Acidez titulable y Vitamina C	102
4.6. Conclusión	105
4.7. Bibliografía	106

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. SNH formada por doce elementos en base a su concentración, fuente y pesos calculados en gramos.	27
Cuadro 1.2. Comparación de medias de contenido de humedad de brotes nuevos de los cultivares CF1, Vi, Jap y Ou con 45 días de maduración	30
Cuadro 1.3. Comparación de medias de biomasa obtenidas en el ciclo de cultivo (45 días)	32
Cuadro 1.4. Medias de variables agronómicas de nopales (45 días)	33
Cuadro 2.1. Análisis fisicoquímico de mucílagos extraídos de diferentes cultivares de nopal (45 días de madurez) cultivados en un sistema hidropónico. Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$).	47
Cuadro 2.2. Composición proximal del mucílago extraído de diferentes cultivares de nopal (45 días de madurez) cultivados en un sistema hidropónico. Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$).	49
Cuadro 2.3. Contenido fenólico y actividad antioxidante por el método de DPPH•, ABTS•+ y FRAP de los mucílagos en polvo con 45 días de maduración.	51
Cuadro 2.4. Conteo vs $^{\circ} 2$ -Theta de los patrones de difracción de tres tipos de mucílagos con 45 días de madurez. Visf: Villanueva sin fibra; Vicf: Villanueva con fibra; CF1sf: Copena F1 sin fibra y CF1cf: Copena F1 con fibra.	55
Cuadro 3.1. Contenido de humedad, Espesuras, PVA, AC y Densidad de las películas formuladas con mucílagos hidropónicos con 45 días de madurez.	72
Cuadro 3.2. Color y opacidad de las películas formuladas con mucílagos hidropónicos con 45 días de madurez.	76
Cuadro 3.3. Estados de solubilidad de películas formuladas con mucílagos de <i>Opuntia</i> spp. y Control.	77
Cuadro 3.4. Registros de temperatura onset y máxima de las películas con mucílagos en las derivadas de los termogramas del TGA.	79
Cuadro 4.1. Efecto de las películas con y sin mucílagos en el color (L^* , a^* y b) de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días de 24-26 °C.	101
Cuadro 4.2. Efecto de las películas con y sin mucílagos en el pH de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días de 24-26 °C.	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Ubicación del Campus de prácticas agropecuarias, Marín. N.L. UANL.	25
Figura 1.2. Establecimiento y funcionamiento del sistema hidropónico del cultivares <i>Opuntia</i> spp.	26
Figura 1.3. Mantenimiento y lavado del sustrato y bancales hidropónicos 1). Recolección del material vegetativo de los cuatro cultivares 2). Aplicación de la pasta bordelesa y cicatrización del material vegetativo 3,4). Trasplante del material vegetativo en los bancales hidropónicos con un orden tres bolillo 5,6,7,8 y 9).	28
Figura 1.4. Cosecha de nopales del cultivar: (A) Jap, (B) Vi, (C) Ou y (D) CF1.	28
Figura 1.5. Comparación de medias de pesos de los cladodios madre para siembra de nopal. Pps g m ⁻² :Peso fresco de la penca madre para la siembra.	29
Figura 1.6. Comparación de medias de brotes de los cultivares a los 45 días de madurez por m ⁻² .	33
Figura 2.1. A) Ubicación del Campus de Ciencias Agropecuarias, Marín. N.L. B) Ubicación del Laboratorio Ibérico Internacional de Nanotecnología, Braga, Portugal.	41
Figura 2.2. Proceso de extracción de mucílagos. A) Desinfección y lavado del material vegetativo, B) Deshidratación de nopales, homogenización y condensación de la suspensión, C) Eliminación de trazas y recuperación de mucílagos, D) Secado y pulverización de mucílagos.	42
Figura 2.3. Comparación de medias de rendimiento de mucílago de nopal deshidratado.	46
Figura 2.4. Espectro FTIR de los polvos de mucílagos <i>Opuntia</i> spp. de nopal a 45 días de maduración. Visf: Villanueva sin fibra; Vicf: Villanueva con fibra; CF1sf: Copena F1 sin fibra y CF1cf: Copena F1 con fibra.	52
Figura 2.5. Patrones de difracción de muestras incineradas de cuatro tipos de mucílagos con 45 días de madurez.	54
Figura 3.1. Películas a base de mucílago de nopal, pectina y glicerol.	69
Figura 3.2. Propiedades mecánicas de las películas con mucílagos hidropónicos de <i>Opuntia</i> spp.	75
Figura 3.3. Espectro FTIR de películas de mucílagos de <i>Opuntia</i> spp. y control.	79
Figura 3.4. Registros de temperatura onset y máxima de las películas con mucílagos en las derivadas de los termogramas del TGA.	80
Figura 3.5. Termogramas de TGA de películas de mucílagos de nopal con la respectiva derivada (dTGA). A) Película control, B) Villanueva con fibra, C) Villanueva sin fibra, D) Copena F1 con fibra y E) Copena F1 sin fibra. Los puntos negros marcados en cada gráfico representan la Temperatura onset y los cuadros negros en el pico de la derivada de TGA representan la Temperatura máxima a la cual fueron degradados los materiales.	81

Figura 3.6. Patrones de difracción de películas de mucílagos de <i>Opuntia</i> spp. y Ctrl.	82
Figura 3.7. Imágenes SEM de películas de mucílagos de nopal y control.	82
Figura 4.1. Procesamiento de las manzanas Golden para su conservación.	92
Figura 4.2. Efectos de las películas comestibles en el análisis microbiológico (UFC/g) de manzanas enteras durante el día 0, 21 y 35 almacenadas a temperatura ambiente. Los controles fueron hongos y levaduras.	96
Figura 4.3. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el tiempo inicial a 25 ± 1 °C.	97
Figura 4.4. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el día 21 a 25 ± 1 °C.	97
Figura 4.5. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el día final a 25 ± 1 °C.	98
Figura 4.6. Manzana entera cubierta con mucílagos y control, almacenada durante 0, 7, 17, 21, 28 y 35 días a 25 ± 1 °C.	98
Figura 4.7. Pérdida de peso de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.	99
Figura 4.8. Solubilidad de las manzanas entera y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.	100
Figura 4.9. Firmeza de las manzanas entera y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C. ambiente.	102
Figura 4.10. Acidez de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días de 25 ± 1 °C.	104
Figura 4.11. Vitamina C de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días de 25 ± 1 °C.	105

INTRODUCCIÓN

Una de las expectativas de la producción agropecuaria es evitar la contaminación de suelos y el agotamiento de insumos que se ve afectada por el deterioro ambiental, implementación de maquinarias, fertilizantes, destrucción en la capa arable, así como índices bajos de calidad en alimentos para el consumo humano. Por lo que, al presentarse este tipo de factores, se genera un decrecimiento en la demanda de productos alimenticios en zonas tanto rurales como urbanas. De acuerdo a lo anterior, una alternativa para controlar estos tipos de daños es la implementación de un sistema intensivo, como la hidroponía.

El sistema hidropónico se caracteriza por cultivar plantas sin suelo usando agua y nutrientes disueltos. Esta técnica se caracteriza por generar un rápido crecimiento, alta productividad, fácil manejo y buena eficiencia del uso de agua (Rana *et al.*, 2011; Roosta y Hamidpour, 2013). También este tipo de sistema de producción no se ve tan afectado por la calidad del agua ni por el deterioro del suelo. Para el caso del nopal verdura para el consumo humano, principalmente el interés está centrado en la producción intensiva, la cual permite obtener un mayor número de cortes al año y por ende da un alto rendimiento de mucílago (Vázquez *et al.*, 2009).

Existen evidencias que establecen la eficiencia y posibles desventajas en la producción del nopal bajo condiciones de hidroponía y a campo abierto con distintas densidades de población en el Estado de Nuevo León (Flores, 2012; Vázquez *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2011; Almaguer, 2014). Los mismos autores aseguran que la producción de biomasa seca (BS) y biomasa fresca (BF) del material vegetal depende del sistema de producción del cultivo, el clima, la fertilización, la edad de la planta y el genotipo). Por lo que, el nopal se considera una cactácea presente en los caminos del México rural y semiurbano, constituye todo un símbolo cultural mexicano con múltiples usos medicinales, agrícolas y ambientales, útiles para su investigación. En los últimos años, el cultivo hidropónico de esta cactácea ha permitido obtener mayor productividad debido a la óptima disponibilidad de nutrientes con una reducción del consumo de agua. Investigaciones realizadas que se basan en la producción de nopal en sistemas hidropónicos son realmente muy escasos y novedosos. Los rendimientos de *Opuntia spp.* reportados en Sonora, Morelos, Ciudad de México, Baja California, Jalisco, Oaxaca y Nuevo León oscilan de 60 hasta 80 t ha⁻¹ por año. En México, el nopal (*Opuntia spp.*) se cultiva como fruta, hortaliza, forraje, para usos industriales (cosméticos y medicamentos).

El desarrollo de nuevos materiales biodegradables obtenidos de subproductos y/o desechos agrícolas es una nueva tendencia global que promueve la protección ambiental a través de la química verde para la elaboración de productos ecológicos (Gheribi *et al.*, 2018). Los cladodios en particular, contienen grandes cantidades de mucílago en las células de las plantas, este es un polímero lineal compuesto de polisacáridos emparentados con las pectinas el cual tiene un potencial como alimento

debido a que contiene fibras (insolubles o solubles), vitaminas (A, complejo B y C), minerales (P, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn y Cr), elementos traza, polímeros (lignina, hemicelulosa y pectina) y compuestos fenólicos (Pérez *et al.*, 2015). Su peso molecular oscila alrededor de 13×10^6 g/mol y su composición del mucílago es de L-arabinosa (47%), D-xilosa (23%), D-galactosa (18%), L-ramnosa (7%) y ácido D-galacturónico (5%). Estos se originan en la cutícula gruesa interna del nopal de color blanco con cavidades de capas celulósicas esparcidas que constituyen al colénquima y clorénquima, las cuales conforman al parénquima. Entre estos tejidos se encuentran células con cristales de oxalato (drusas) y fibras solubles e insolubles en un medio acuoso. De acuerdo a lo anterior, la composición fisicoquímica del mucílago podría ser utilizada en la elaboración de biopelículas junto con otros aditivos para frutas altamente perecederas y mínimamente procesadas (Domínguez *et al.*, 2011).

Algunos estudios realizados para la aplicación del mucílago por distintos autores son: inhibidor de corrosión de aluminio, agente purificador de agua, adhesivo orgánico a la cal para restaurar y proteger edificios históricos en México; en la industria de alimentos, las macromoléculas del hidrocoloide son utilizadas para el desarrollo de recubrimientos en alimentos, estabilizador de emulsiones y espumas, control de cristalización, estabilizador de suspensión, inhibición de la sinéresis y forma geles (A.Y. El-Etre, 2003; Miller *et al.*, 2008; Cardenas, Arguelles y Goycoolea, 1998; Del Valle *et al.*, 2005; Garti y Leser, 2001; Dziezak, 1991 y Medina *et al.*, 2000).

El mucílago extraído de las células vegetales en plantas como Quimbombó, Lino, Chia, Ispaghul y nopal ha tenido un enorme auge en la industria de alimentos. Específicamente el mucílago extraído del nopal (*Opuntia* spp.) implementado en la formulación de películas y/o recubrimientos comestibles como biodegradables tiene un gran interés, ya que forma parte de la preservación de las características en calidad de los alimentos, disminución del deterioro generado por la oxidación en el ambiente a través de microorganismos y, que esta alternativa representa una estrategia única para reducir efectos negativos en el ambiente. La composición de las películas comestibles es muy variada, los principales materiales utilizados en la formulación son proteínas, polisácaridos, lípidos y agentes antioxidantes. Cada componente o aditivo usado durante la elaboración de las películas poseen características particulares que benefician en diferentes aspectos a determinados alimentos o productos (Velázquez, 2014). De forma general, los revestimientos comestibles pueden proteger los productos alimenticios de daños mecánicos y microbianos, inhiben los procesos de senescencia y proporcionan una estética óptima demandada por el consumidor sin afectar las características organolépticas del material.

Evidencias de los últimos años que demuestran la eficiencia de la aplicación de los mucílagos extraídos de material vegetativo (*Opuntia* spp.) con diferentes objetivos en la industria de alimentos y limitadas investigaciones en la elaboración de películas para incrementar la vida de anaquel de

distintos productos. En el caso de (Gheribi *et al.*, 2018), reportan la extracción, composición y características estructurales del mucílago de *Opuntia ficus-indica* (OFI). También la formulación de películas a base de glicerol y sorbitol que mostraron buenas propiedades a través de polioles con relación a las características ramificadas del plastificante (peso molecular, forma y número de -OH). Ellos mencionan que la selección de un plastificante apropiado depende de la posible aplicación y propiedades requeridas del biomaterial a desarrollar.

Otro de los trabajos reportados por Allegra *et al.*, (2017) desarrollaron un revestimiento comestible de mucílago de nopal extraído de *Opuntia ficus-indica* aplicado en higos que son altamente perecederos y su vida útil muy corta. El efecto del revestimiento comestible sobre la vida útil y los atributos cualitativos de la fruta se evaluaron mediante colores, contenido de sólidos solubles totales, acidez valorable, fenol total, carotenoides totales. Los resultados mostraron que el recubrimiento mejora la calidad de breba higo durante el almacenamiento. El revestimiento comestible fue eficaz para mantener el peso fresco de la fruta, los valores de puntuación visual, la firmeza de la fruta y el contenido total de carotenoides. La fruta recubierta mostró un desarrollo significativamente menor de *Enterobacteriaceae* que las de control durante todo el período de observación.

Por otra parte, Adjero *et al.*, (2018) investigaron el proceso de electrocoagulación-electroflotación asistido con mucílago de OFI a fin de mejorar la eficiencia de eliminación de cobre en el agua. Se encontró principalmente que la remoción de cobre en el agua alcanzó el 100 % en menos de 5 min con una concentración de 30 mg/L de mucílago, así como percibieron que los polisacáridos de mucílago OFI proporcionan evidencia de ser ecológico, rentable, accesible y adecuado para la eliminación de cobre en aguas contaminadas.

Los polisacáridos no almidonados son abundantes en los cladodios del género *Opuntia* spp., así como las características químicas de estos polímeros a menudo responden a la domesticación de la especie. Evaluaron la variación química parcial de los compuestos y aislaron el mucílago, pectinas y hemicelulosas, en cada uno de ellos se identificó el grado de esterificación, metionilación y ácido galacturónico. El grado de esterificación del mucílago (58.26 – 69.95%), pectinas (59.43 – 69.68%) y el grado de metilación del mucílago (25.24 – 28.66%) fueron independientes del nivel de domesticación. Por el contrario, el grado de metilación de las pectinas (24.48 – 27.16%) fue mayor en las especies silvestres que en las domesticadas. El contenido total de ácido galacturónico en el mucílago (1.83 – 4.10 mM 100 mg⁻¹ biomasa seca) y las pectinas (6.46 – 10.33 mMol 100 mg⁻¹ biomasa seca) fue mayor en las especies domesticadas que en las silvestres. Sin embargo, el contenido de proteína estructural en pectinas (2.45 – 2.9%), hemicelulosas débilmente unidas (0.21 – 0.28%) y hemicelulosas fuertemente unidas (0.45 – 0.79%) fue mayor en especies silvestres. Las características químicas de los polisacáridos estructurales variaron significativamente con la

domesticación, probablemente como consecuencia de la presión de selección para entornos agrícolas amplios.

Los investigadores Bayar, Friji y Kammoun, (2018) generaron un estudio que constó en el aislamiento de pectina extraída de *Opuntia ficus indica* después de eliminar el mucílago y utilizando la enzima xinalasa y celulasa. Las variables de proceso fueron optimizadas por el diseño Box-Behnken, establecieron que la pectina extraída enzimáticamente fue poco metilada con un alto contenido de ácido urónico y una capacidad de retención de agua con aceite de 5.42 g y 1.23 g respectivamente. Los investigadores concluyeron que la pectina extraída de los cladodios representaría un aditivo prometedor en las industrias de alimentos. Finalmente, Contreras *et al.*, (2016; Felkai *et al.*, (2016; Cai, Xiaohong y Jian, (2008); Matsuhira *et al.*, (2006) y Sepúlveda *et al.*, (2007) realizaron la extracción de mucílago a partir del nopal (*Opuntia ficus-indica*) con distintas técnicas empleadas para obtener puro y un óptimo rendimiento del polímero. La técnica empleada por dichos investigadores fue la precipitación con solvente (etanol) a diferentes concentraciones (2/3, 2:1 y 3:3 p/v).

Cabe mencionar que algunas metodologías están modificadas para lograr una optimización en la extracción del polímero, ya que utilizan homogeneizadores, microondas, estufas de convección y liofilizadora. Los rendimientos de mucílago reportados oscilan de 17 a 11 % que dependerán del contenido de humedad, área del cladodio, fisiología de la planta y madurez del material vegetativo. Existen diversas investigaciones y trabajos reportados con caracterizaciones químicas y físicas del mucílago nopal; sin embargo, de acuerdo a los estudios presentados estos siguen limitados e insuficientes.

McGarvie y Parolis, (1981); Vargas *et al.*, (2016) y Naod y Tsige, (2012) indican que el clima, el tipo de especie de nopal, la edad de cladodio, la estación climática, la temperatura y la topografía del lugar, modifican la calidad y el rendimiento de la extracción del polisacárido. Pero, no se tiene información particular que sustente el hecho de que al coleccionar cladodios de cultivares como Villanueva (Vi), Copena F1 (CF1), Jalpa (Jap) y *Opuntia undulata* (Ou) establecidos en un sistema de producción hidropónico con un estado de maduración (45 días) presenten características físicas, químicas y mecánicas diferentes durante la evaluación y selección antes de su aplicación. Por lo que, algunos mucílago intervienen al prolongar la vida de anaquel específicamente de productos perecederos y con corta vida útil como las manzanas. Además, son limitadas las evidencias que muestren que al utilizar mucílago con pectina y glicerol como aditivos para la elaboración de biopelículas estas inhiban la actividad microbiana o que cumplan con estándares de calidad oficiales para el consumo humano.

El fruto Golden Delicious de la familia *Mullins*, es una variedad de color verde amarillento muy dulce en el paladar y con alta producción de etileno. Su cosecha es desde otoño hasta invierno. La

vulnerabilidad a golpes y marchitamiento requiere de un manejo y almacenamiento cuidadoso. La industria de alimentos mínimamente procesados tiende a crecer de manera sustantiva junto con el crecimiento de población y la tendencia de consumo hacia comida fácil. Los frutos mínimamente procesados presentan incremento de la síntesis de etileno y respiración, degradación de membranas pérdida de agua, producción de nuevas sustancias y pardeamiento oxidativo, el cual es uno de los factores más limitantes en la producción de frutas y hortalizas con un mínimo proceso. Estos cambios fisiológicos pueden resultar en problemas de calidad, donde destacan la pérdida de sabor y aroma, pérdida de textura (firmeza) y el ya mencionado pardeamiento que afecta la apariencia del producto. Las estrategias para evitar tales inconvenientes anteriormente mencionados incluyen el uso de recubrimientos y empaques con la capacidad moderar la velocidad de respiración del fruto (Rocha-Neto *et al.*, 2019). De acuerdo con lo anterior, es muy escasa la información sobre la actividad antimicrobiana de recubrimiento de mucílago extraído de nopal aplicado en frutos, específicamente la manzana. La aplicación de una película comestible y biodegradable no perceptible a base de mucílago de nopal, pectina y glicerol a manzanas Golden Delicious, incrementa su resistencia tanto en hongos como en levaduras y así reduce la pérdida de agua para prolongar su vida útil sin alterar las propiedades organolépticas sin uso de la frigoconservación.

HIPÓTESIS

- La densidad de población incrementa la producción de biomasa seca de los cultivares Villanueva, Jalpa, Copena F1 y *O. undulata* de *Opuntia spp.* en condiciones hidropónicas.
- Las características fisiológicas y morfológicas del nopal interaccionan con el ambiente, por lo tanto, los rendimientos de mucílagos serán incrementados entre los cultivares bajo las mismas condiciones a los 45 días de maduración.
- La acumulación de fibras en los mucílagos hidropónicos Villanueva y Copena F1 modifican las propiedades físicas y químicas, así como la generación de grupos funcionales en las películas.
- Las propiedades fisicoquímicas, mecánicas, de barrera, microbiológicas y sensoriales de las películas formuladas con mucílagos Villanueva y Copena F1 sin fibras de nopal aumentan la vida de anaquel de frutos de Golden delicious.

Objetivo General

Determinar el efecto de la incorporación de mucílagos hidropónicos en películas comestibles a base de pectina y glicerol en la vida de anaquel de manzanas *Malus doméstica* del cultivar golden delicious.

Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de la densidad de población en la producción de biomasa seca en cultivares Villanueva, Jalpa, Copena F1 y *O. undulata* cultivado bajo condiciones hidropónicas.
- Evaluar el rendimiento y calidad de mucílago de los cultivares Villanueva, Jalpa, Copena F1 y *O. undulata* de nopal hidropónico y caracterizar parcialmente las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de los mucílagos de los cultivares Villanueva y Copena F1 con y sin trazas fibrosas.
- Formular y caracterizar las propiedades físicas, químicas, mecánicas, de barrera y funcionales de películas de mucílago de nopal de Villanueva, Copena F1 con y sin trazas fibrosas.
- Evaluar la funcionalidad fisicoquímica, sensorial, microbiológica y sensorial de las películas de los mucílagos Villanueva y Copena F1 sin trazas fibrosas en la vida de anaquel de manzana.



CAPÍTULO 1

Producción de biomasa de los cultivares provenientes de *Opuntia* spp., obtenida bajo condiciones hidropónicas.

Mini Revisión: Agroindustrial Exploitation of the Mucilage Obtained from the Nopal Cactus *Opuntia* spp. en Novel Techniques in Nutrition and Food Science, 2019.

Brenda Luna-Sosa^a, Guillermo C.G. Martínez-Ávila^a, Dulce C. González-Sandoval^a, Humberto Rodríguez-Fuentes^a, Ernesto Sánchez-Alejo & Romeo Rojas^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Research Center and Development for Food Industries, School of Agronomy. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

*Correo electrónico: romeo.rojasmln@uanl.edu.mx

1.1. Resumen

OFI es una familia de plantas que tiene diversos usos. Un componente interesante de estas plantas es el mucílago que tiene varias propiedades que se pueden utilizar en la industria alimentaria o aditiva. Sin embargo, existe una gran variabilidad de su cantidad y calidad debido a las diferentes condiciones de crecimiento del material vegetal. Una alternativa viable es un sistema hidropónico que permite controlar las condiciones de crecimiento al homogeneizar la cantidad y calidad del cultivo y sus componentes. Los cultivares de 4 especies de nopal mexicano (Vi, Jap, Ou y CF1) fueron producidos y evaluados respecto a su variabilidad agronómica en un sistema hidropónico. La densidad de siembra fue de 30 pl m⁻². Se determinó la acumulación de biomasa de 637.33 y 3,028.23 g m⁻² de BF, sin embargo, la BS osciló de 61.28 a 317.58 g m⁻². El mayor contenido de humedad lo obtuvo Ou con 91.00 % y CF1 el más bajo con un valor de 90.47 %. Lo anterior significa que al menos un 10% del área del nopal inhiba la retención de humedad. La cantidad de brotes encontrada para cultivar demostró un comportamiento diferente debido a las diferencias de madurez que tenían las pencas madres antes de ser trasplantadas (734.23, 845.04, 942.02 y 1038.21 g m⁻²). Los resultados del largo y grosor de los nopales indicaron que la densidad utilizada de siembra no afectó sus características evaluadas debido a la homogeneidad de nutrición en las plantas para asegurar su producción.

Palabras clave: Sistema hidropónico, nopal mexicano, variabilidad agronómica, producción.

1.2. Abstract

Opuntia ficus-indica is a family of plants that has various uses. An interesting component of these plants is the mucilage that has several properties and several uses in the food or additive industry. However, there is a great variability in its quantity and quality due to the different growth conditions of the plant material. A viable alternative is a hydroponic system that allows control of growth conditions by homogenizing the quantity and quality of the crop and its components. The cultivars of 4 species of Mexican nopal (Vi, Jap, Ou and CF1) were produced and evaluated for their agronomic variability in a hydroponic system. The sowing density was 30 pl m⁻². The biomass accumulation of 637.33 and 3,028.23 g m⁻² of BF was determined, however, the BS ranged from 61.28 to 317.58 g m⁻². The highest moisture content was obtained by Ou with 91.00% and CF1 the lowest with a value of 90.47 %. This means that at least 10% of the nopal area inhibits moisture retention. The number of shoots found for cultivation showed a different behavior due to the

differences in maturity that the mother pencas had before being transplanted (734.23, 845.04, 942.02 and 1038.21 g m⁻²). The results of the length and thickness of the nopals indicated that the sowing density used did not affect their evaluated characteristics due to the homogeneity of nutrition in the plants to ensure their production.

Keywords: *Hydroponic system, Mexican nopal, agronomic variability, production.*

1.3. Introducción

El nopal del género (*Opuntia ficus- indica*) se ha utilizado tradicionalmente en México ya que ocupa un lugar importante en nuestra cultura. Además, se caracteriza por tener la capacidad antiinflamatoria, fortalecer el sistema inmunológico en el hombre, por las propiedades antioxidantes (betalaínas), es rico en minerales (calcio, hierro, magnesio, potasio, silicio, sodio y magnesio) y vitaminas (A, B1, B2 y C); además de ser alimentos bajos en calorías. Por otro lado, el nopal es importante por la cantidad de fibra alimentaria (pectinas, mucílago, celulosa, hemicelulosas) que contiene de forma insoluble y soluble.

CF1 pertenece a OFI y fue desarrollado por el Colegio de Postgraduados-Escuela Nacional de Agricultura de México y seleccionados para la producción de forraje. Produce pencas largas, delgadas y verdes excelentes para consumo humano, cuando están maduras. Los cladodios de estos cultivos son de color verde claro, con pericarpio delgado y ligero chapete en la parte expuesta al sol. Bajo condiciones de lluvia, se produce al menos una serie de pencas por temporada de crecimiento. Ou se distingue por su margen ondulado y su superficie extremadamente cerosa con poca presencia de espinas y este produce nopales verdes claros. Este material identificado O-188 e identificado en la Facultad de Agronomía de la UANL. Estos cultivares son denominados de “triple propósito” haciendo referencia a la producción de nopal verdura para el consumo humano, producción de tuna y forraje. Vi registrada con clave O-189 con procedencia zacatecana por el sitio llamado Villanueva. Jap fue identificada con la clave O-186 igualmente de Zacatecas por sus materiales alargados, tienen textura cerosa, fuertemente expresada en la superficie. Por otra parte, Vi y Jap se consideran únicamente para una aplicación, los brotes del cladodio madre son utilizados como vegetal.

La importancia económica y social del cultivo del nopal verdura en México radica en la gran superficie ocupada por nopaleras tanto silvestres como cultivadas, en el tipo y número de productores involucrados, en el tipo de regiones en que se cultiva nopal, en la diversidad de los productos generados (Flores *et al*, 2006). Hoy en día, los paquetes tecnológicos de producción que se están utilizando en México y sus alrededores para agricultura protegida consisten en sistemas abiertos, los

cuales presentan un inconveniente de alto consumo de agua, siendo un recurso indispensable pero escaso y fertilizantes costosos (Tlahque, 2011). Con un ambiente controlado (hidroponía) es posible disminuir la varianza debida al ambiente, estimar con mayor precisión el efecto de la densidad de población sobre la calidad nutrimental y producción del nopal (Rodríguez *et al.*, 2011).

Además, los sistemas intensivos de producción de nopal se han venido instituyendo como una alternativa destacada para producir alimentos ya sea en las zonas rurales y/o urbanas. En la actualidad el crecimiento de la mancha urbana de las ciudades ha estado provocando un decremento acelerado de los terrenos agrícolas, donde los ciudadanos de las mega-urbes, cada vez se están viendo orillados a producir alimentos para su propio consumo, usando las áreas que tienen a su disposición. La producción agrícola en los poblados rurales ha venido decreciendo debido al agotamiento y contaminación de los suelos. Lo anterior nos está sugiriendo el uso de sistemas más sofisticados como los hidropónicos, donde estos sistemas no pueden ser afectados por la calidad del agua y/o contaminación de los suelos, ajustándose a las áreas que se tengan disponibles para este efecto (Santander, 2007).

En otro estudio, Almaguer (2009) evaluó el crecimiento del nopal verdura cultivado en forma hidropónica, empleando una densidad de 16 pl m⁻² y cosechando al segundo nivel de planta, reportando una producción total de 25,786 y 1,624 g m⁻² de BF y BF, respectivamente durante el período de marzo-agosto 2009. Flores (2012), estudió la producción de biomasa y calidad nutrimental de OFI para consumo humano cultivado en forma hidropónica, empleando una densidad de 20, 30 y 40 pl m⁻². Dicha investigación constó de tres ensayos, el primer ensayo correspondiente en condiciones de cielo abierto en los períodos: septiembre-octubre 2010, reportando una producción de BS de 153.48 y 156.64 g m⁻². El segundo ensayo bajo condiciones de micro túnel durante el mes de marzo de 2011, obteniendo un rendimiento de BS de 414.115 y 264.068 g m⁻²; el tercer ensayo en micro túnel y cielo abierto de abril a agosto del 2011, alcanzando una producción de BS de 1290.81 y 1403.07 g m⁻².

En un sistema de producción con materiales vegetativos diferentes al fotoperíodo, y sin limitaciones hídricas ni nutrimentales, la temperatura ejerce el efecto más significativo en la evolución de los procesos metabólicos. Además, hay reacciones que se presentan e influyen en la temperatura durante el crecimiento y desarrollo de las plantas está dado por una densidad de siembra de plantas por m⁻² (Rodríguez *et al.*, 2011). Para tener un óptimo cultivo, emplear índices biotérmicos para alcanzar una tasa relativa de crecimiento alta en las plantas es de suma importancia durante el concepto de los grados día que se estén acumulando a través del período fenológico de determinadas plantas. De

acuerdo con lo anterior, el objetivo en este capítulo de investigación fue: estudiar el efecto de la densidad de población en la producción de biomasa seca en cultivares Vi, Jap, CF1 y Ou cultivados bajo condiciones hidropónicas.

1.4. Materiales y Métodos

1.4.1. Localización del sitio experimental

La investigación se llevó a cabo en el periodo comprendido entre el 28 de abril del 2018 al 24 de mayo del 2018 en el Centro de Investigación y Desarrollo en Hidroponía de la Facultad de Agronomía Campus Marín de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicado en el municipio de Marín, N. L., México (L 25° 23" N y L 100° 12" W, a 393 msnm).

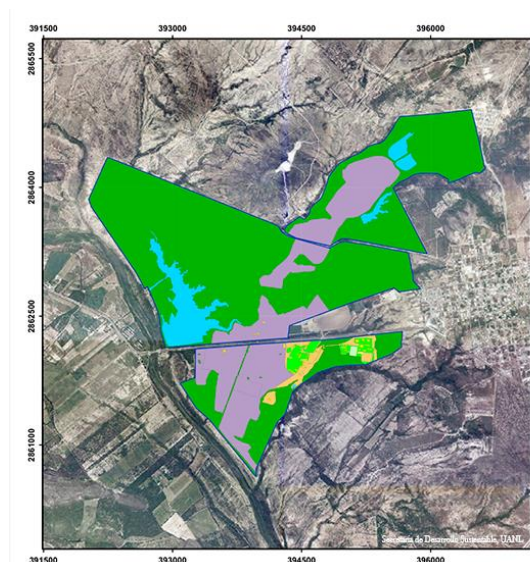


Figura 1.1. Ubicación del Campus de prácticas agropecuarias, Marín, N.L. UANL.

El clima es extremoso, con régimen de lluvias en agosto y septiembre, la precipitación promedio anual es de 528 mm. La dirección de los vientos es de norte a sur, con una temperatura media anual de 22°C; temperatura máxima de 40°C y temperatura mínima de 4°C; siendo los meses más calientes julio y agosto.

1.4.2. Material vegetativo

Se usaron cladodios de la variedad Vi, Jap, CF1 y Ou de cinco meses de edad, obtenidos de la procesadora de Gallinaza y el rancho "El arroyito", ambos situados en el Municipio de Gral. Zuazua, N.L. México.

1.4.3. Establecimiento del sistema hidropónico

Se utilizó un sistema hidropónico cerrado que consta de bancales construidos de bloque de hormigón con dimensiones de 14 m de longitud por 1.10 m de ancho (interior), 0.20 m de altura y piso de concreto con acabado pulido y sellado. El bancel consta de dos partes, el cuerpo del mismo y cabecera que permite drenar la solución nutritiva debido a que se encuentra por debajo del piso un colector conectado a una cisterna de 2.5 m³ de capacidad (Figura 1.2.).

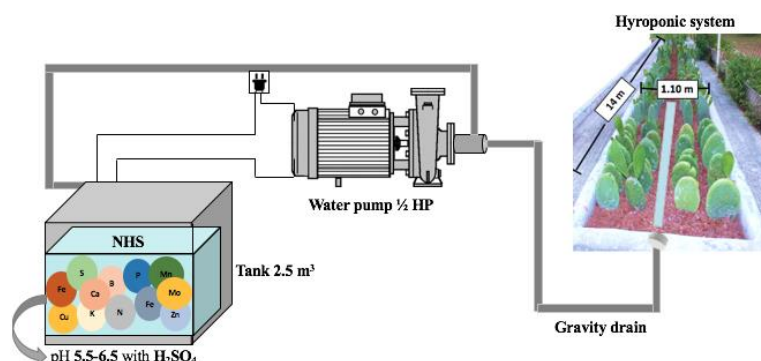


Figura 1.2. Establecimiento y funcionamiento del sistema hidropónico del cultivares *Opuntia spp.*

Dentro del bancel, se empleó roca volcánica como sustrato con una granulometría de 20 a 40 mm de diámetro, previamente lavada y desinfectada con una solución de ácido sulfúrico grado industrial amortiguada a pH 3.0, con esta solución se inundó el bancel por un periodo de tres horas y posteriormente se lavó dos veces con agua corriente. Se usó la solución nutritiva hidropónica (SNH) de acuerdo con lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2011) con previo análisis para conocer su contenido de (Ca²⁺), magnesio (Mg²⁺), carbonatos (CO₃²⁻), cloruros (Cl⁻), sulfatos (SO₄²⁻) y sodio (Na⁺), ajustando la cantidad de nutrimentos en función al análisis de calidad de agua para riego agrícola. El volumen de SNH fue de 2000 L y se renovó completamente cada 10 días, la concentración y fuentes se muestran en el Cuadro 1.

El pH se ajustó a 5.5- 6.5 cada vez que se renovó la SNH. El riego con la SNH se realizó cada 15 días. Se usó una bomba centrífuga de 0.373 kW (0.5 HP) de 3.81 cm (1.5 plg) diámetro a la salida, para saturar el sustrato contenido en el bancel; el exceso se drenó (recicló) inmediatamente hacia la cisterna por gravedad. Para estimar la cantidad de agua que se quedaba retenida al sustrato se determinó la capacidad de retención de humedad del mismo por el método de volumen conocido, que consistió en pesar 500 g de sustrato y saturarlo con 500 mL de agua, colocarlos en un recipiente de plástico el cual se cerró herméticamente y se dejó reposar por 24 h, se colocó un matraz para recuperar el volumen de agua a través un embudo con un filtro Whatman # 1. Los resultados

permitieron calcular la retención total (16 %), con lo anterior se programaron de 2 a 3 riegos mensualmente.

Cuadro 1.1. SNH formada por doce elementos en base a su concentración, fuente y pesos calculados en gramos.

ELEMENTO	CONCENTRACIÓN (mg L ⁻¹)	FUENTE	PESO (g)
N	200	---	-
P	60	KH ₂ PO ₄	445.63
K	250	KNO ₃	1292.95
Ca	200	Ca (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	583.43
Mg	50	Mg (NO ₃) ₂	-
S	100	H ₂ SO ₄	-
Fe	0.50	FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.97
Mn	0.25	MNSO ₄ ·H ₂ O	1.52
B	0.25	H ₃ BO ₃	-
Cu	0.02	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.15
Zn	0.25	ZnSO ₄ ·H ₂ O	1.37
MO	0.01	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.05

Se determinaron los pesos frescos de los cladodios madre de los cultivares Vi, Jap, CF1 y Ou antes de ser trasplantados. Esto, con el objetivo de observar hasta la cosecha la competencia entre sí para la producción de biomasa en cada tratamiento aún teniendo la misma densidad de población en los cultivares y con las mismas condiciones establecidas en el sistema hidropónico.

1.4.4. Trasplante del material vegetativo y diseño experimental

Se utilizaron plantas de 4 distintos cultivares de 5 meses de edad y 30 cm de altura, previamente se desinfectaron las pencas con pasta bordelesa al 15 % y las plantas fueron almacenadas por 15 días. Posteriormente las plantas se insertaron en roca volcánica a una profundidad de 15 cm. El diseño experimental fue un completamente al azar con 4 tratamientos y 3 repeticiones que consistieron en T1= CF1; T2= Vi y T3= Ou y T4= Jap. La unidad experimental fue de 1.0 m² y el marco de plantación del material vegetativo fue “tres bolillo”, se denomina un sistema de plantación en que cada tres plantas forman un triángulo equilátero y que, como otros sistemas análogos, pueden trazarse sobre el terreno por medio de cuerdas determinando antes las distancias a que deben quedar las plantas entre sí.



Figura 1.3. Mantenimiento y lavado del sustrato y bancales hidropónicos **1)**. Recolección del material vegetal de los cuatro cultivares **2)**. Aplicación de la pasta bordelesa y cicatrización del material **3,4)**. Trasplante del material vegetativo en los bancales hidropónicos con un marco de plantación tres bolillo **5,6,7,8 y 9)**.

1.4.5. Producción de biomasa

Se cosecharon todos los nopales de primer nivel que cumplieran con una longitud de 20 cm mínimo y 30 cm máximo días después después del trasplante.

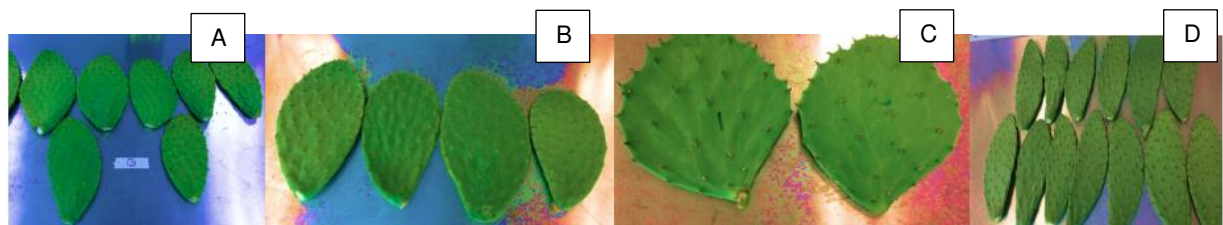


Figura 1.4. Cosecha de nopales del cultivar: (A) Jap, (B) Vi, (C) Ou y (D) CF1.

En los cultivares anteriores fueron realizadas mediciones de variables en la producción en fresco, número de brotes, largo y ancho del nopal, volumen y número de nopales obtenidos.

1.4.6. Contenido de humedad en los nopales

Diez cladodios de cada cultivar, se pesaron y cortaron en tiras delgadas para secar las muestras de forma homogénea y rápida. Las muestras se introdujeron a una bolsa de papel previamente identificada y se colocaron en una estufa de convección forzada (Thermo scientific, modelo oms 60,

Estados Unidos) a una temperatura de 70 a 80 °C hasta peso constante. Se calculó el contenido de humedad y se determinó la biomasa seca a través de la metodología establecida por Almaguer, (2010).

1.4.7. Análisis estadístico

Se utilizó el Programa IBM SPSS Statistics para realizar los análisis de varianza (ANOVA). Los valores medios se separaron por la prueba de rango múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$). Los gráficos se elaboraron utilizando los programas Prisma 7.0 y Microsoft Office Excel 2010.

1.5. Resultados y Discusión

1.5.1. Pesos de cladodios antes de su trasplante

El análisis de varianza de ($p \leq 0.05$) mostró diferencias significativas en los tratamientos, a excepción de Jap y CF1. En la Figura 1.5. se muestran los resultados obtenidos de las diferencias de pesos de cladodios madre de 5 meses.

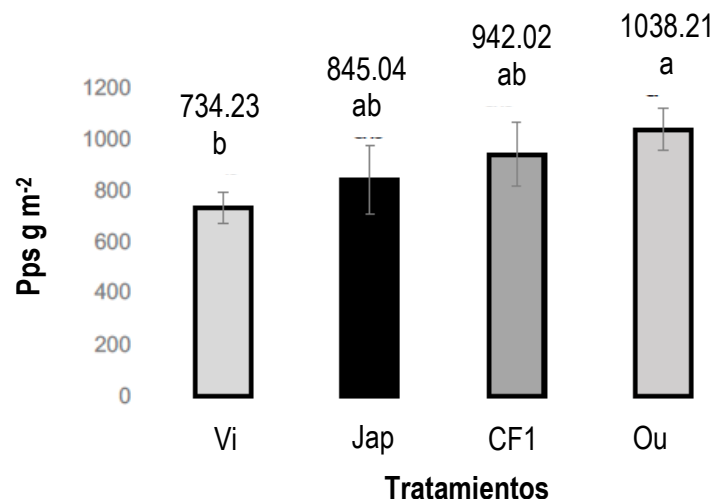


Figura 1.5. Comparación de medias de pesos de los cladodios madre para siembra de nopal. **Pps g m⁻²** :Peso fresco de la penca madre para la siembra.

La significancia entre los tratamientos se debe a la madurez real de la penca, así como el contenido de agua. Por lo que, a mayor área se esperaría tener más biomasa fresca.

1.5.2. Contenido de humedad

Los tratamientos CF1 y Ou presentaron diferencias significativas. Sin embargo, Jap y Vi fueron estadísticamente iguales. Lo anterior, se debe a las diferencias fisio-morfológicas de los cultivares, así como al tamaño de los brotes obtenidos en cada tratamiento que absorbieron mayor cantidad de agua en el sistema hidropónico aún siendo homogéneos los riegos realizados para el cultivo. También, la humedad aumenta como resultado del desarrollo del parénquima que conduce a un incremento en la capacidad de almacenamiento de agua. La NMX-F-451-(1983) establece que el contenido de agua del producto debe ser mayor a 90%, lo que significa que los resultados se encuentran dentro del rango establecido. La humedad de los nopales reportada por autores pareció variar en algunas unidades; por ejemplo, los cultivares evaluados por Maki-Díaz *et al.*, (2015) obtuvieron 94.84 – 94.56 %; Betancourt-Domínguez *et al.*, (2006) tuvieron 91.5 a 94.2 %; Rodríguez-Félix y Cantwell, (1988) señalaron 92 % y 88 a 95 % según Mizrahi *et al.*, (1997).

Cuadro 1.2. Comparación de medias de contenido de humedad de brotes nuevos de los cultivares CF1, Vi, Jap y Ou con 45 días de maduración.

TRATAMIENTO	CONTENIDO DE HUMEDAD (%)
CF1	90.47 ± 0.10 ^b
Vi	91.98 ± 0.74 ^{ab}
Jap	90.80 ± 5.79 ^{ab}
Ou	91.00 ± 0.21 ^a

Media ± Desviación estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey $\alpha=0.05$).

1.5.3. Biomasa fresca y seca

El cultivar CF1 fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$) del resto de los tratamientos, con una producción de 3,028.23 g m⁻² y 317.58 g m⁻² de BF y BS, respectivamente. Por otro lado, los cultivares Vi, Jap y Ou presentaron valores similares que fluctuaron entre 637.33 a 897.33 g m⁻² de BF y de 61.82 a 77.94 g m⁻² de BS (Cuadro 1.3). Los materiales se evaluaron a una densidad de población establecida de 30 pl m⁻². La diferencia en la producción de nopal se atribuye a la falta de asimilación de nutrientes por parte de algunos cultivares debido a la competencia por la producción de tuna, dado que, en un período más corto, se obtiene una mayor producción de cladodios y la densidad de la población a la que el material vegetativo se establece, produce más.

Además, un factor que influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas es la temperatura del aire, ya que estas condiciones prevalecen en su producción máxima durante el período primavera-verano.

Vázquez-Alvarado *et al.*, (2009), ellos informaron un trabajo sobre la producción hidropónica semicomercial de nopal vegetal, utilizando agua con alto contenido de sal. Señalaron además, que los valores más altos de rendimiento, longitud y diámetro de los cladodios se observaron en el cultivar Villanueva. Para estas tres variables, el cultivar Copena-v1 presentó los valores más altos. Los valores de volumen en cm^3 , el área foliar en cm^2 , el número de cladodios en forma decreciente fueron presentados por los cultivares Jap y CF1 para estas mismas variables. Almaguer-Sierra *et al.*, (2014), obtuvieron una producción de $4,450 \text{ g m}^{-2}$ de BF y $7,000 \text{ gm}^{-2}$ de BS de Vi (21 cortes, con una densidad de población de 16 pl m^{-2} , durante 30 días) en un sistema hidropónico cerrado. Flores-Mendiola, (2012) obtuvo una producción de $1,403.07$ y $1,290.81 \text{ g m}^{-2}$ (18 cortes, 15 días con una densidad de población de 14 pl m^{-2}) en un campo abierto. Los anteriores investigadores establecen que los sistemas hidropónicos aumentan la producción de OFI en comparación con los sistemas tradicionales o intensivos. Afirman que, en condiciones hidropónicas, la biomasa fresca de cladodios en diferentes etapas de madurez oscila entre 142, 264 y $470 \text{ toneladas ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, respectivamente. Por lo tanto, la producción de nopal en los sistemas de hileras tradicionales oscila entre 40 y $90 \text{ toneladas ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$.

En sistemas intensivos, el rendimiento es de $112 \text{ toneladas ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. OFI y ou pueden producir hasta $47 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ como plantaciones irrigadas de alta densidad en campos abiertos, que es más alta que las plantas C3 (no tienen adaptaciones fotosintéticas para reducir la fotorrespiración) y algunas C4 (su fijación de carbono ocurre en las células externas del mesófilo y el Ciclo de Calvin se produce en las células internas de la vaina). Las diferencias observadas en los resultados reportados muestran que se deben básicamente a los sistemas de manejo, el potencial genético diferencial de la variedad, la cantidad y la calidad del suministro climático de diferentes Estados de México como el de Coahuila, el Centro de Zacatecas, Baja California Sur y Marín, Nuevo León respectivamente. Por otro lado, el rango de concentraciones óptimas de nutrientes para el cultivo varía según el cultivar y sus etapas fenológicas. Esto se aplica al nopal, a cualquier otro cultivo y al tipo de sustrato implementado. Los ensayos exploratorios realizados en México, Japón, África y Brasil mostraron que los sistemas hidropónicos desempeñan un papel importante en la producción de nopal en forraje y vegetales en climas extremos. Por lo tanto, la producción estable de nopal con mayor valor nutritivo a través del control ambiental en fábricas de plantas o en diferentes tipos de sistemas hidropónicos podría practicarse en un futuro próximo considerando las ventajas y desventajas que dependen del cultivo a estudiar (Horibe, 2016).

Cuadro 1.3. Comparación de medias de biomásas obtenidas en el ciclo del cultivo (45 días).

TRATAMIENTO	BF TOTAL (g m ⁻²)	BS TOTAL (g m ⁻²)
CF1	3,028.23 ± 29.96 ^a	317.58 ± 3.17 ^a
Vi	897.33 ± 35.15 ^b	77.94 ± 2.49 ^b
Jap	719.33 ± 25.89 ^b	75.37 ± 3.54 ^b
Ou	637.33 ± 23.00 ^b	61.82 ± 2.35 ^b

Media ± Desviación estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey $\alpha=0.05$). BF= Biomasa fresca; BS= Biomasa seca.

1.5.4. Brotes nuevos

Se registraron los promedios por cada tratamiento con tres repeticiones a los 45 días durante el período de abril-mayo de 2018. Las temperaturas registradas en promedio fueron de 23.8 – 26.2 ° C (medias), 17.2 – 20 ° C (mínimas) y 30.5 – 32.5 ° C (máximas). De este modo se calcularon los grados día históricos (GDH) para el mes de Abril y fueron de 125 y para Mayo de 190 aproximadamente. Los GDH se calcularon a partir del arranque del cultivo (abril 2019) hasta la fecha de corte (mayo 2019). Los datos de temperatura se obtuvieron de la estación meteorológica localizada en el ejido de Marín, Nuevo León. De acuerdo a lo anterior, *Opuntia* spp. se desarrolla de manera óptima en rangos de 18 – 25 ° C y puede tolerar hasta 35 °C, esto significó que el cultivo se benefició del microambiente establecido en el sistema hidropónico para la obtención de una biomasa redituable. Los valores de varianza ($p \leq 0.05$) fueron estadísticamente iguales Vi, Jap y Ou. El cultivar CF1 fue altamente productivo comparado con los otros cultivares, entonces pudo considerarse una especie altamente productiva. Flores Mendiola, (2012) trabajaron con 3 densidades de población (20, 30 y 40 pl m⁻²) y los resultados arrojaron valores de 44.38, 24.13 y 10.88 brotes.

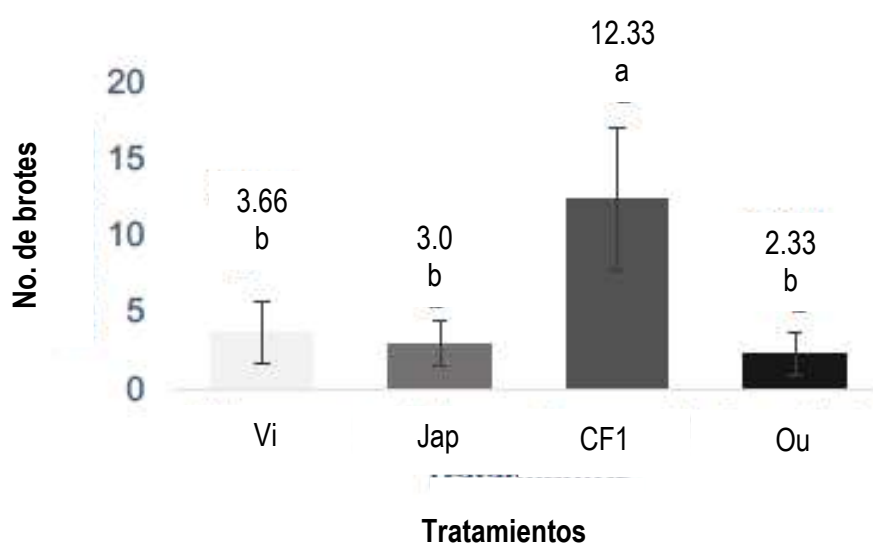


Figura 1.6. Comparación de medias de brotes de los cultivares a los 45 días de madurez por m⁻².

1.5.5. Dimensiones de los brotes

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) para el largo y grosor de los brotes nuevos (45 días) fueron no significativos. Esto se debe a la homogeneidad que se tenía en el sistema hidropónico y el tiempo de cosecha para los cultivares. Los resultados de la variable ancho fueron mayores para Ou seguida de Vi, Jap y CF1. Las diferencias observadas se debieron a la morfología original de las especies durante la etapa de desarrollo y vegetativo en el período del cultivo, siendo el cultivar “oreja de elefante” más ancho.

Cuadro 1.4. Medias de variables agronómicas de los nopales (45 días).

TRATAMIE NTO	LARGO (cm)	ANCHO (cm)	GROSOR (cm)
CF1	25.48 ± 1.02 ^{Ns}	8.88 ± 0.36 ^c	0.58 ± 0.10 ^{Ns}
Vi	23.87 ± 1.87 ^{Ns}	11.55 ± 1.00 ^b	0.64 ± 0.25 ^{Ns}
Jap	25.35 ± 2.94 ^{Ns}	10.76 ± 0.68 ^{bc}	0.52 ± 0.18 ^{Ns}
Ou	23.15 ± 1.31 ^{Ns}	17.31 ± 1.49 ^a	0.46 ± 0.20 ^{Ns}

Media ± Desviación estándar. Medias con la misma letra no difieren estadísticamente (Tukey $\alpha = 0.05$) y Ns, las medias no tienen significancia. CF1= Materiales del cultivar Copena F1; Vi= Materiales del cultivar Villanueva; Jap= Materiales del cultivar Jalpa; Ou= Materiales del cultivar *Opuntia undulata*.

1.6. Conclusiones

Las condiciones del establecimiento del cultivo hidropónico de nopal fueron mejores con la implementación del arreglo tres bolillos entre el material vegetativo y la densidad de población de 30 pl m⁻² utilizadas en los cultivares CF1, Vi, Jap y Ou de *Opuntia* spp., presentó significancia en las variables agronómicas evaluadas previo a su aprovechamiento agroindustrial. Por lo que, estos materiales vegetativos pueden ser un gran potencial industrial de producción de mucílagos bajo condiciones hidropónicas de los cultivares anteriormente mencionados que son de base biológica y son aptos para el consumo humano en un estado de madurez de 45 días. Esto se convierte en una alternativa para el estudio de las propiedades físicas y químicas de polisacáridos de interés por las fibras que constituyen al nopal.

1.7. Bibliografía

1. A. Cardenas, W.M. Arguelles and F.M. Goycoolea (1998). On the possible role of *Opuntia ficus indica* mucilage in lime mortar performance in the production of historical buildings. J. Prof. Assoc. Cactus. 3; 64-71.
2. A. Velázquez-Moreira y J. A. Guerrero Beltrán (2014). Algunas investigaciones recientes en recubrimientos comestibles aplicados en alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.. Universidad de las Américas Puebla. San Andrés Cholula, Puebla, México. 8-2; 5-12.
3. A.Allegria, G. Sortino, P. Inglese, L. Settani, A. Todaro and A. Gallota (2017). The effectiveness of *Opuntia ficus-indica* mucilage edible coatings on post-harvest maintenance of "Dottato" fig (*Ficus carica* L.) fruit. Journal of Food Packaging and Shelf Life. 12; 135-141.
4. A.Y. El-Etre (2003). Inhibition of aluminum corrosion using *Opuntia* extract, J. Corrosion Science. 45; 2485-2495.
5. Almaguer Sierra, P., H. Rodríguez-Fuentes, J. A. Vidales Contreras, R. Valdez Cepeda, J. Aranda Ruíz, J. Rodríguez Absi, M. López Jiménez & J. C. Rodríguez Ortiz (2009). Biomass accumulation in *Opuntia ficus indica* (L.) Mill plants grown in a closed hydroponic system. Acta Hort. (ISHS) 843:35-42.
6. Almaguer-Sierra, P., Rodríguez-Fuentes, H., Barrientos Lozano, L., Mora Ravelo, S.G., Vidales-Contreras, J.A., (2014). Relación entre grados-día y la producción de *Opuntia ficus-indica* para consumo humano en Marín, Nuevo León. Rev. Mex. Ciencias Agrícolas 5, 1055–1065.
7. Argus Cezar da Rocha Neto, Bruno Bachiega Navarro, Ludiana Canton, Marcelo Maraschin, Robson Marcelo Di Piero (2019). Antifungal activity of palmarosa (*Cymbopogon martinii*), tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and star anise (*Illicium verum*) essential oils against *Penicillium expansum* and their mechanisms of action, 105(2), 385-392.
8. Betancourt-Domínguez, M. A., T. Hernández-Pérez, P. García-Saucedo, A. Cruz-Hernández, and O. Paredes-López. (2006). Physico-chemical changes in cladodes (nopalitos) from cultivated and wild cacti (*Opuntia* spp.). Plant Foods Hum. Nutr. 61: 115-119.

9. Bianca Yadira Pérez-Sariñana, Antonio de León-Rodríguez, Sergio Saldaña-Trinidad and Sebastian Pathiyamattom Joseph (2015). Optimization of Bioethanol Production from Coffee Mucilage. J. Bioresources. 10; 4326-4338.
10. Donald McGarvie and Haralambos Parolis (1981). The acid-labile, peripheral chains of the mucilage of *Opuntia ficus indica*. J. Carbohydrate research. 94; 57-65.
11. E. Sepúlveda, C. Sáenz, E. Aliaga and C. Aceituno (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. J. Arid Enviroments. 68; 534-545.
12. Flores Hernández, A.; Acosta Rodríguez, G.F.; Murillo Amador, B.; Trejo Calzada, R. y Arreola Ávila, J.G. (2006). Evaluación preliminar de la reserva de nopal (*Opuntia* spp.) en la región Laguna, Chihuahua. Revista Redalyc. 5; 191-196.
13. Flores-Mendiola, G.R., (2012). Producción de biomasa y calidad nutrimental de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill para consumo humano cultivado en forma hidropónica. Universidad Autónoma de Nuevo León.
14. Gerardo Rodrigo Flores Mendiola (2012). Producción de biomasa y calidad nutrimental de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill para consumo humano cultivado en forma hidropónica. Tesis de Maestría. División de Estudios de Posgrado. Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nuevo León.
15. Griselda Maki-Díaz, Cecilia B. Peña-Valdivia , Rodolfo García-Nava, M. Lourdes Arévalo-Galarza, Guillermo Calderón-Zavala, Socorro Anaya-Rosales (2015). Características físicas y químicas del nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. Revista agrociencia. 49.
16. Hamid R. Roosta and Mohsen Hamidpour (2013). Mineral nutrient content of tomato plants in aquaponics and hydroponic systems: effect of foliar application of some macro- and micro-nutrients. J. Plant nutrition. 36; 2070-2083.
17. Horibe-Takanori, Iwagawa-Yohei, Kondo-Hiroki and Yamada, Kunio. (2016). Hydroponics Culture of Edible *Opuntia* 'Maya': Effect of Constant Red and Blue Lights on Daughter Cladodes Growth and Spine Development. Environment Control in Biology. 54. 165-169.
18. J.D. Dziezak (1991). A focus on gum. J. Food Technology. 45; 116-132.
19. L. Medina Torres, E. Brito-De la fuente, S.B. Torrestiana and R. Katthain (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocolloid. 14; 417-424.
20. Lamia Felkai-Haddache, Farid Dahmoune, Hocine Remini, Khalef Lefsih, Lotfi Mouni and Khodir Madani (2016). Microwave optimization of mucilage extraction from *Opuntia ficus indica* cladodes. Journal of Biological Macromolecules. 84; 24-30.
21. Margarita Contreras-Padilla, Mario E. Rodríguez-García, Elsa Gutiérrez-Cortez, M. del Carmen Valderrama-Bravo, J. Isela Rojas-Molina, Eric M. Rivera-Muñoz (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus* mucilage at three different maturity stages of cladode. J. European Polymer. 78; 226-234.
22. Matsuhiro, B., Lillo, L.E., Sáenz, C., Urzúa, C.C., Zárate, O., (2006). Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. Carbohydr. Polym. 63, 263–267.
23. Mizrahi, Y., A. Nerd, and P. S. Nobel. (1997). Cacti as crops. Hort. Rev. 18: 291-320.

24. N. Garti and M.E. Leser (2001). Emulsification properties of hydrocolloids, J. Polym. Adv. Technol. 12; 123-135.
25. Nadia Bayar, Marwa Friji and Radhouane Kammoun (2018). Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal. J. Food Chemistry. 241; 127-134.
26. Naod Gebresamuel and Tsige (2012). Comparative Physico-Chemical Characterization of the Mucilages of Two Cactus Pears (*Opuntia* spp.) Obtained from Mekelle, Northern Ethiopia. J. Biomaterials and Nanobiotechnology. 3; 79-86.
27. Nawel Adjeroud, Saliha Elabbas, Belkacem Merzouk, Yasmina Hammoui, Lamia Felkai-Haddache, Hocine Remini, Jean-Pierre Leclerc and Khodir Madani (2018). Effect of *Opuntia ficus indica* mucilage on copper removal from water by electrocoagulation-electroflotation technique. J. Electroanalytical Chemistry. 811; 26-36.
28. NMX-F-451 (1983). Alimentos para humanos. Nopales envasados. Food for humans. Canned prickly pears. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.
29. R.E. Vázquez Alvarado, E. Salazar-Sosa, J.L. García-Hernández, E. Olivares-Sáenz, C. Vázquez-Vázquez, J.D. López Martínez, I. Orona-Castillo (2009). Producción de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) en hidroponía empleando agua con alto contenido de sales. J. PACD. 11; 13-17.
30. Rana Khan, Zeeshan Aziz and Vian Ahmed (2011). Reclamation of municipal domestic wastewater by aquaponics of tomato plants. J. Ecological Engineering. 37;981–988.
31. Rim Gheribi, Laura Puchot, Pierre Verge, Najeh Jaoued-Grayaa, Mohamed Mezni, Youssef Habibi and Khaoula Khwaldia (2018). Development of plasticized edible films from *Opuntia ficus-indica* mucilage: A comparative study of various polyol plasticizers. J. Carbohydrate Polymers. 190; 204-211.
32. Rodríguez-Félix, A., and M. Cantwell. (1988). Developmental changes in composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). Plant Food Hum. Nutr. 38: 83-93.
33. Rodríguez-Fuentes, H., J. Rodríguez A., P. Almaguer S. y J. C. Rodríguez Ortiz (2011). Cultivo Hidropónico del nopal. Editorial Trillas, S.A. de C.V. México, D.F. 62p.
34. S.M. Miller, E.J. Fugate, V.O. Craver, J.A. Smith, J.B. Zimmerman (2008). Toward understanding the efficacy and mechanism of *Opuntia* spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. J. Environ Science. 42; 4274-4279.
35. Santander F. (2007). Manual de hidroponía popular. <http://www.elmejorguia.com/hidroponia/La-hidroponia-popular.htm> (6-Noviembre-2017).
36. Tlahque G.J. (2011). Producción hidropónica de lechuga con y sin recirculación de solución nutritiva. Tesis de Maestría. División de Estudios de Posgrado. Universidad Autónoma de Chapingo. Estado de México.
37. V. Del-Valle, P. Hernández Muñoz, A. Guarda and M.J. Galotto (2005). Development of a cactus-mucilage edible coatings (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberries (*Fragaria ananassa*) shelf life. J. Food Chemistry. 91; 751-756.
38. Vargas R., L.; Arroyo F., G.; Herrera Méndez, C. H.; Pérez N., A.; García V., M.I. y Rodríguez N., J.R. (2016). Propiedades físicas del mucilago de nopal. J. Multidisciplinary Scientific. 26; 8-11.
39. Viridiana Sugly Ilette Domínguez Canales, Jorge A. Zegbe Domínguez, Dolores Alvarado Nava y Jaime Mena Covarrubias (2011). Extracción y purificación de mucilago de nopal. INIFAP. No. 21.

40. Weirong Cai, Xiaohong Gu and Jian Tang (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. J. Carbohydrate Polymers. 71; 403-410.



CAPÍTULO 2

Extracción y caracterización de mucílago de *Opuntia ficus-indica* cultivado en un sistema hidropónico

Submission article: Extraction and characterization of mucilage from *Opuntia ficus indica* cultivated on hydroponic system, Food Research International, 2019.

Brenda Luna-Sosa^a, Humberto Rodríguez-Fuentes^a, Miguel A. Cerqueira^b, Guillermo C.G. Martínez-Ávila^a, Ana G. Azevedo^b, Dulce C. González-Sandoval^a & Romeo Rojas^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Research Center and Development for Food Industries, School of Agronomy. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

^b International Iberian Nanotechnology Laboratory, Av. Mestre José Veiga s/n, 4715-330 Braga, Portugal.

*Correo electrónico: romeo.rojasmln@uanl.edu.mx

2.1. Resumen

El comportamiento fisicoquímico y mecánico de los mucilagos hidropónicos obtenidos de *Opuntia* spp. fue evaluado. El mucílago está conformado de heteropolisacáridos y compuestos lignocelulósicos solubles en agua de alto contenido de fibras. El objetivo de la presente investigación fue evaluar 4 especies de nopal mexicano en un sistema hidropónico, extraer y caracterizar el mucílago. La caracterización consistió en pH, °Brix, color, análisis proximal, fenoles totales, actividad antioxidante, cristalinidad y constituyentes de enlace químico. CF1 es la mejor alternativa para la producción de biomasa y mucílago. Vi tiene altos niveles de fenoles (1,311.83 mg EAG g⁻¹), alta capacidad antioxidante ABTS (6,301.12 mg ET g⁻¹) y FRAP (536.26 mg EAG g⁻¹). Una gran cantidad de lípidos (1.39 %) y extracto libre de nitrógeno (49.27 %). Se hicieron los grupos funcionales de identificación del mucílago (-OH, -CH, -CH₂, -CH₃, C = C, HCH, -CHO), yeso, celulosa, SiO₂ CaSO₄, C₂H₂K₂O₅, CaCO₃ y CaH₂ por difracción de rayos X. El sistema hidropónico es una alternativa viable para la producción de nopal y mucílago y, por lo tanto, produce mucílago de alta calidad que puede utilizarse en varios sectores de la industria.

Palabras clave: Mucilagos hidropónicos, cultivares, grupos funcionales.

2.2. Abstract

The physicalchemical and mechanical behavior of hydroponic mucilages obtained from *Opuntia* spp. was characterized. Mucilage is composed of water soluble lignocellulosic and heteropolysaccharides of high fibers content. The objective of the present research was evaluating 4 species of Mexican Nopal in a hydroponic system, extract and characterize the mucilage. The characterization consists in pH, °Brix, color, proximal analysis, phenols, antioxidant activity, crystallinity and chemical bonding constituents. CF1 is the best alternative for production of biomass and mucilage. Vi has high levels of phenols (1,311.83 mg GAE g⁻¹), high antioxidant capacity ABTS (6,301.12 mg TE g⁻¹) and FRAP (536.26 mg GAE g⁻¹). A large amount of lipids (1.39 %), and nitrogen-free extract (49.27 %). The identification functional groups of the mucilage (-OH, -CH, -CH₂, -CH₃, C=C, HCH, -CHO) and gypsum, cellulose, SiO₂ CaSO₄, C₂H₂K₂O₅, CaCO₃ and CaH₂ by X-ray diffraction were made. The hydroponic system is a viable alternative for production of nopal and mucilage and therefore produce high quality mucilage that can be used in several sectors of the industry.

2.3. Introducción

La principal ventaja de un cultivo bajo condiciones de hidroponía, como es el caso del nopal, principalmente es la producción intensiva, permitiendo obtener un mayor número de cortes al año. El consumo de agua y nutrientes se reduce sustancialmente a un mínimo. Tampoco se presentan pérdidas de nutrientes en el suelo o que estos sean aprovechamiento por otras especies ajenas al nopal. Se puede calcular una óptima relación y disponibilidad de los nutrientes, lo que permitiría un crecimiento significativo, más rápido y con plantas más vigorosas. La demanda del nopal también se ha incrementado en el extranjero, y aunque México es el principal exportador la cantidad de nopal vendida en otras partes del mundo aún es poca, menos del 1% de la producción nacional. Estados Unidos es el principal mercado, le sigue Japón y algunos países europeos. El alto contenido de fibra (tanto soluble como insoluble), es la principal causa de los aportes medicinales del nopal, pues esta impide o retrasa la absorción de los azúcares. La fibra y los mucílagos (la baba) controlan la producción en exceso de ácidos gástricos y protegen la mucosa gastrointestinal. Además, contribuyen a una buena digestión, evitando problemas de estreñimiento (Trachtenberg, S. y Mayer, 1980).

Los nopales son tallos modificados y reemplazan las hojas en su función fotostática. Son órganos suculentos y articulados con forma ovoide o alargada (30-80 cm de largo y 18-25 cm de ancho). La parte interna de los cladodios está formada por la clorénquima, donde se lleva a cabo la fotosíntesis, y la parte interior está formada por un parénquima medular blanco cuya función principal es el almacenamiento de agua (Trachtenberg, S. y Mayer, 1980). En ambos hay células mucilaginosas que almacenan mucílago, se distribuye en las diferentes partes de las plantas *Opuntia* y frutas (cáscara y pulpa). Por otra parte, el nopal presenta un sistema vascular constituido por fibras floemáticas, floema y xilema, estos haces vasculares circundan al parénquima medular, formando un cilindro. Entre las células del epidermis, clorénquima y tejido medular de los cladodios se encuentran células con cristales de oxalato de calcio (drusas) productoras de la baba de nopal.

El mucílago es parte de la fibra dietética, y generalmente se refiere a una parte de la fruta, vegetales, granos, nueces y legumbres que no pueden ser digeridos por los humanos (resistente a las enzimas digestivas). La fibra dietética está compuesta de varios componentes químicos que son resistentes a las enzimas digestivas: entre estos componentes se encuentran celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina, gomas (mucílago), etc. La capacidad del mucílago para formar redes moleculares y retener grandes cantidades de agua lo convierte en una fuente potencial de hidrocoloides para la industria química y cosmética. Varios estudios han evaluado la utilidad y aplicación del hidrocoloide para

filtración del agua, cal adhesiva, agente emulsionante y oculante, esto se debe a las propiedades físicas (viscosidad, elasticidad, textura y emulsión).

En general, los polisacáridos son compuestos naturalmente reactivos debido a la presencia de diferentes grupos funcionales en sus estructuras moleculares. Algunos estudios apuntan a usos como adsorbentes, que se aplican con éxito para la purificación de proteínas. Por otro lado, los polímeros naturales incluyendo los del mucílago son biodegradables, biocompatibles, generalmente no tóxicos y tienen una buena relación costo-beneficio. Por el contrario, la mayoría de los polímeros sintéticos derivados de materias primas no renovables tienen un alto costo y toxicidad, generando contaminación ambiental (Deogade, Deshmukh y Sakarkar, 2012). Muñoz López *et al.*, (2016) caracterizaron reológica del mucílago de *Opuntia ficus-indica* en flujo cortante de distintos cladodios con diferentes edades de maduración, a saber, 20, 40 y 600 días por medio de liofilizado y se llevó a cabo un análisis de la composición química e identificación de carbohidratos. Los resultados en este trabajo indicaron que el incremento en la viscosidad y en la elasticidad, así como la formación de geles en los mucílagos del nopal maduro, son el resultado de un aumento del peso molecular con la edad de maduración.

Rim Gheribi *et al.*, (2018) extrajeron el mucílago de nopal de *O. ficus indica* y determinaron su composición de azúcares a través del análisis de HPLC-RID (detectores de índice de refracción de la cromatografía líquida de alta eficacia), así como las características estructurales por FTIR (Espectroscopia de transmisión de infrarrojo con Transformada de Fourier). También realizaron películas con una concentración de 40% (p/p) con glicerol, sorbitol y polietilenglicol. Ellos mencionan que el efecto de los plastificantes de tipo poliol en las diferentes propiedades de las películas comestibles de mucílago se relacionan con las interacciones con los polisacáridos en las pruebas realizadas. El mucílago incluye el uso en alimentos como un estabilizador, agente aromatizante, sustituto de grasa, recubrimientos comestibles para prolongar la vida útil de la fruta. Hoy en día persiste la limitación de rendimientos insuficientes para la extracción del polisacárido aún cuando existen diversos trabajos reportados con caracterizaciones química y físicas del mucílago. Además, se desconoce de que manera abunda la calidad como composición de la sustancia anteriormente mencionada por el uso de distintas variedades utilizadas como lo es, Jap, Vi, CF1 y Ou (oreja de elefante).

2.4. Materiales y Métodos

2.4.1. Material biológico

El material vegetativo utilizado fue nopal de los cultivares CF1, Vi, Jap y Ou cosechados a los 45 días después del trasplante en un sistema hidropónico.

2.4.2. Ubicación experimental

La segunda parte del estudio se desarrolló en los Laboratorios de la FAUANL del campus de Ciencias Agropecuarias en General Escobedo, Nuevo León, México y en el International Iberian Nanotechnology Laboratory en Braga, Portugal.



Figura 2.1. A) Ubicación del Campus de Ciencias Agropecuarias, Marín. N.L. B) Ubicación del Laboratorio Ibérico Internacional de Nanotecnología, Braga, Portugal.

2.4.3. Extracción de mucílagos

La extracción se llevó a cabo con base a lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2014) y Espino *et al.*, (2010) con algunas modificaciones. Los cladodios se cortaron en trozos pequeños, se colocaron en agua destilada (1:1 p/v) y se mezclaron en una placa de agitación magnética (Thermo Fisher Scientific SP13163033Q, EE. UU.) durante 10 minutos hasta obtener una suspensión homogénea. Después, se calentó (110 °C/60 min) con agitación constante y se centrifugó (Ultracentrifuge 5810/5810 R, Eppendorf, EE. UU.) a 252 x g/20 min. Para precipitar el mucílago, se añadió etanol (98%) al sobrenadante en una proporción 2:1 v/v y se almacenó a 4 °C/60 h. El etanol se evaporó en un horno convencional (Modelo ED 115, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.) A 70 °C / 2 días. El mucílago

precipitado se pulverizó y se tamizó (tamiz n.º4, tamaño de partícula de Ø 1.75 mm, MEQUIM, EE. UU.) Para obtener un tamaño de partícula homogéneo.

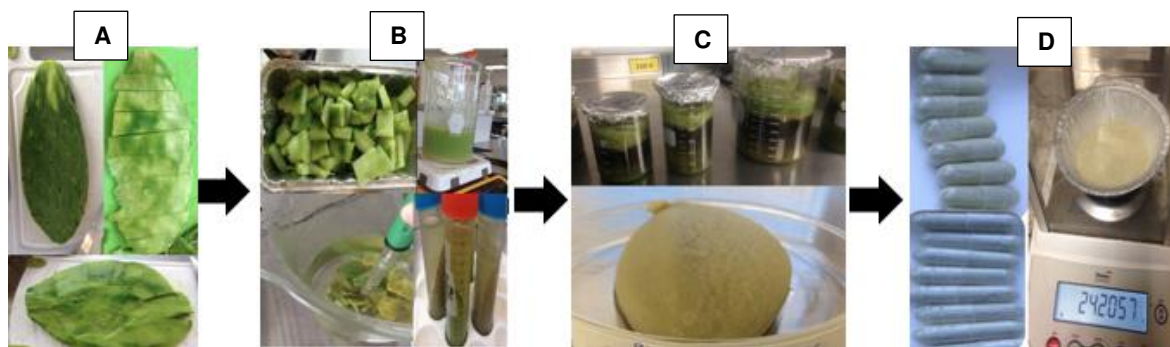


Figura 2.2. Proceso de extracción de mucílagos. A) Desinfección y lavado del material vegetativo, B) Deshidratación de nopales, homogenización y condensación de la suspensión, C) Eliminación de trazas y recuperación de mucílagos, D) Secado y pulverización de mucílagos.

Las muestras se almacenaron en un recipiente hermético hasta su uso. El rendimiento se calculó de acuerdo con la ecuación 1.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso seco obtenido de mucílago (g)}}{\text{Peso fresco de extracto (g)}} \times 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

2.4.4. Caracterización de mucílagos

2.4.5. Análisis fisicoquímico

Se resuspendió 1 g de polvo de mucílago en 10 mL de agua-metanol. El pH se midió con un medidor de pH calibrado (Hanna HI 2211, Alemania). Los sólidos solubles totales se determinaron con un refractómetro de 0 – 30% (Optika, DC-HR 130, China). El color se midió con un colorímetro (Minolta, CR-400, EE. UU.) Y los resultados se expresaron en función del perfil CIELAB, utilizando las coordenadas de color L* (luminosidad), a* (rojo / verde) y b* (amarillo / azul). Las determinaciones se hicieron por triplicado.

2.4.6. Análisis proximal

Se realizaron de acuerdo con el Método de Análisis Oficial, (1984). La humedad se realizó con la prueba 934.06. La proteína cruda se analizó con el método Kjeldhal (Modelo GL-44, EE. UU.) 960.52. La grasa total según el método Soxhlet (Modelo EV6 All, Gerhardt, Alemania) 960.39. El contenido

de cenizas se calculó en base a la incineración en una mufla (Modelo ECO-2L, EE. UU.) A 550 °C después de la prueba 923.03. La fibra cruda se evaluó con el método enzimático-gravimétrico (método 985.29). El extracto libre de nitrógeno se analizó cualitativamente con la diferencia del 100% de las muestras. Los valores obtenidos en porcentajes se convirtieron con la transformación angular de Bliss a través de los resultados de arcoseno por triplicado para analizarse estadísticamente con un diseño experimental completamente al azar.

2.4.7. Determinación del contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales (PT) se determinó por el método Folin-Ciocalteu de acuerdo con Siddhuraju y Becker (2003) y Georgé *et al.*, (2005). Se preparó una suspensión metanólica de mucílago (1:20 p/v). Se mezclaron 25 µL de suspensión de mucílago con 25 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, y después de 1 minuto, se agregaron 25 µL de carbonato de sodio (75 g L⁻¹). La solución se mezcló completamente y se incubó a 40 °C/30 min en un baño de agua. Después de eso, la mezcla se ajustó con 200 µL de agua destilada y la absorbancia se registró a 750 nm con un lector de microplacas (Synergy HT Multi-Detection Microplate Reader, BioTek Instruments, EE. UU.). La absorbancia de la muestra se comparó con la curva estándar de ácido gálico para estimar la concentración de PT en la suspensión de mucílago. Los PT se calcularon como media ± DE y se expresaron en mg de ácido gálico por g de materia prima (mg EAG g⁻¹).

2.4.8. Actividad antioxidante

2.4.9. Actividad de barrido del radical DPPH•

La actividad antioxidante en el mucílago se evaluó como la actividad de captación de radicales libres DPPH•. Esta actividad se estimó utilizando el método propuesto por Brand-Williams *et al.*, (1995), Castro-López y *et al.*, (2017) y Rojas *et al.*, (2018). La capacidad de donación de átomos de hidrógeno de la muestra se midió a partir de una solución de metanol-DPPH• de color púrpura claro (60 mM). Se añadieron 5 µL de solución de mucílago a una solución radical de 295 µL de DPPH•. Después de un período de incubación en la oscuridad durante 30 minutos, la absorbancia se registró a 517 nm con el mismo lector de microplacas. La capacidad de inhibición se calculó por la ecuación. (2), y expresado como porcentaje de inhibición del radical DPPH•:

$$\text{Inhibición (\%)} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{muestra}})/A_{\text{Control}}] * 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde A_{Control} es la absorbancia de la reacción de control (que contiene todos los reactivos excepto el compuesto de prueba) y A_{muestra} es la absorbancia con la solución de mucílago. Se utilizó ácido

gálico como referencia. La inhibición de DPPH• se expresó como el promedio de tres repeticiones en equivalentes de ácido gálico en mg por gramo (mg EAG g⁻¹) de materia prima.

2.5. Actividad de eliminación de radicales ABTS^{•+}

La inhibición del radical ABTS^{•+} se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Van der Berg *et al.* (1999). El catión radical ABTS^{•+} se realizó a través de la preparación de una solución acuosa de persulfato de potasio (2,45 mM) y ABTS^{•+} (7 mM). Estos reactivos reaccionan estequiométricamente en una proporción de 1:2 respectivamente y deben mantenerse en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 h antes de su uso. Se prepararon soluciones diluidas de ABTS^{•+} en etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 ± 0.002 nm. Luego, se mezclaron 95 µL de la solución diluida de ABTS^{•+} con 5 µL de solución de mucílago y se midió la absorbancia a 734 nm con el mismo lector de microplacas. La capacidad de inhibir el radical se calculó de acuerdo con la ecuación 3 y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical ABTS^{•+}:

$$\text{Inhibición (\%)} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{muestra}})/A_{\text{Control}}] * 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde A_{Control} es la absorbancia de la reacción de control (que contiene todos los reactivos excepto el compuesto de prueba) y A_{muestra} es la absorbancia con la solución de mucílago. La capacidad de eliminación de ABTS^{•+} de la solución de mucílago se calculó de acuerdo con la curva estándar trazada con Trolox y se expresó como equivalente de Trolox en mg por gramo (mg ET g⁻¹) de materia prima.

2.5.1. Ensayo de poder reductor del ion férrico (FRAP)

El poder reductor del ión férrico (Fe³⁺) se determinó según lo descrito por Benzie y Strain, (1996) con una ligera modificación por Castro-López *et al.*, (2017). A 5 µL de solución de mucílago se añadieron 12 µL de tampón fosfato pH 7. Después de eso, se añadieron a la mezcla 22 mL de ferrocianuro de potasio al 1%, se homogeneizaron y se incubaron en un baño de agua hirviendo a 50 °C/20 min. después de enfriar, se añadieron 12 µL de ácido tricloroacético al 10%. Además, se añadieron 45 µL de agua destilada y 10 µL de cloruro férrico al 0.1 % y se agitó a fondo. La absorbancia se registró a 700 nm con el mismo lector de microplacas. Finalmente, los resultados se informaron como equivalentes de ácido gálico en mg por gramo (mg GAE g⁻¹) de materia prima.

2.5.2. Cristalinidad y constituyentes de enlace químico en mucílagos

Las fases de cristalinidad del mucílago se evaluaron por difracción de rayos X (DRX) de acuerdo con lo informado por Ballesteros *et al.*, (2018) utilizando un difractómetro D8 Discover (Bruker,

corporación) con el tubo de Cu ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$). La radiación se generó a 25 mA y 30 kV. El ángulo de dispersión de 2θ de 10° a 60° con un tamaño de paso de 0.04 y 1 s de exposición en cada paso.

Los grupos químicos y las disposiciones de unión de los componentes presentes en el mucílago se determinaron mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrómetro Vertex 80/80 v Bunker Modelo FT-IR (Boston, EE. UU.) En modo de reflectancia total atenuada (ATR) con un platino accesorio de cristal Las mediciones se registraron con un rango de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} y 3 escaneos por muestra.

2.5.3. Análisis estadístico

Todos los experimentos se analizaron por triplicado ($n = 3$) y los resultados se expresaron como media \pm desviaciones estándar. El análisis de varianza (ANOVA) se calculó con la prueba de Tukey a través del software Statistica 21.0 (IBM Corp., Nueva York, NY, EE. UU.) Con un nivel de confianza del 95%.

2.6. Resultados y Discusión

2.6.1. Rendimiento de mucílagos

El rendimiento del mucílago de nopal fue significativamente diferente ($p \leq 0.05$) entre los cultivares de nopal. CF1 presentó el rendimiento más alto (16.47%), seguido por el cultivar Vi con valores de 13% de polvo en materia seca. Además, los cultivares Ou y Jap presentaron los rendimientos más bajos, con valores de 11.62 y 8.74% de mucílago (Figura 2.3.). El rendimiento del mucílago recuperado obtenido en este estudio (8,74 - 16,47%) fue ciertamente mayor que los datos sobre compuestos lignocelulósicos reportados para OFI de 1.9% (Villareal *et al.*, 1963). Monroy *et al.*, (2017) mencionan que los rendimientos de mucílago obtenidos de cladodios frescos y secos utilizando extracción térmica varían de 22 a 25% y de 20 a 33% en base a materia seca (b.m.s.) respectivamente. Valores similares a los reportados por Goldstein *et al.* (1991), de 9 – 19% (b.m.s.). Esta diferencia está asociada con el contenido de humedad de los nopales y el estado de madurez del material vegetativo. Otro factor que posiblemente intervino durante el proceso de extracción del polímero fue la aglomeración de células mucilaginosas en la solución con el disolvente recuperado, ya que una actividad enzimática que ha degradado el material puede persistir fácilmente. Eso podría haber intervenido en los rendimientos obtenidos de los mucílagos hidropónicos debido a la tendencia a la temperatura hasta 110°C durante la extracción, ya que Huang *et al.* (2010) y Karazhiyan *et al.* (2011) mencionan que los polisacáridos comienzan a degradarse a 90°C .

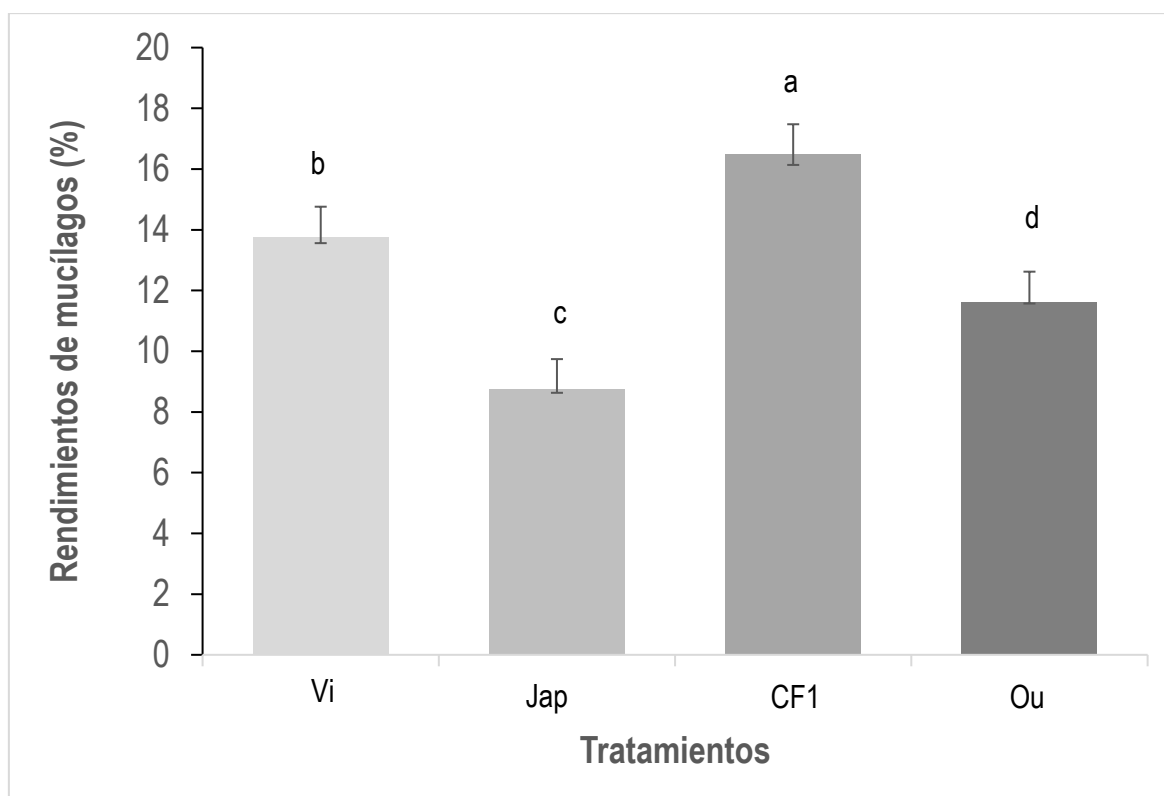


Figura 2.3. Comparación de medias de rendimiento de mucílago de nopal deshidratado.

2.6.2. Caracterización de mucílagos

2.6.3. Análisis químico y bromatológico

Los resultados del pH indicaron que los mucílagos se encontraban alrededor de 5.19 por CF1. Los valores fueron estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos. El mucílago se denominó debilmente ácido, ya que es un compuesto orgánico que típicamente tiene un exceso de iones H^+ (hidrógeno). Autores como León-Martínez *et al.* (2011) y Contreras-Padilla *et al.* (2016) coinciden con rangos de pH (5.5 – 6) en las suspensiones. Los resultados obtenidos de los sólidos solubles disueltos de los mucílagos en el análisis de varianza ($p \leq 0.05$), fueron diferentes estadísticamente. Jap tuvo el más alto con 17.65 y CF1 el más bajo con 15.31. Existe un trabajo realizado por Vargas-Rodríguez *et al.* (2016) y presentaron valores de la dependencia de la viscosidad (η) respecto a la temperatura (20 – 80 °C) y a los grados brix (0.2 – 0.6) para el mucílago (*Opuntia spinulifera*). Por lo que, se puede describir que nuestros valores no coincidieron con los reportados, esto pudo deberse a las diferencias de las condiciones a las cuales se analizaron las suspensiones, especie y madurez de los nopales. Los resultados del análisis del color mostraron diferencias significativas entre los mucílagos en polvo evaluados a los 45 días de madurez. La luminosidad (L^*) más alta la presentó CF1 (81.54) arrojando un color beige y la más débil Ou (65.2), marrón pardo. Las coordenadas rojo/verde (a^*) y perfil amarillo/azul (c^*) resultaron ser mayores en Vi y menores en CF1. Estos valores correspondieron al

contenido de clorofila de los mucílagos sufrieron alteraciones al ser sometidos en cocción para inhibir cualquier actividad enzimática en el medio antes de recuperarlos. Lo anterior ocasionó un cambio de color verde oliva en las muestras a marrones, en lugar de verde brillante del pigmento fotorreceptor debido a la pérdida del átomo de magnesio y formó la llamada feofitina. Reportes de Contreras-Padilla *et al.* (2016) obtuvieron de valores de luminosidad (L^*) de 73 – 83 de los mucílagos en diferentes estados de madurez del material (50, 100 y 150 días). Las coordenadas de color promedio aquí se correlacionaron aproximadamente con las reportadas por du Toit y de Wit y Arno, (2018) para *Opuntia* spp. Mucílagos con un mes de maduración en diferentes momentos. L^* para Febrero (89.54), abril (87.39), mayo (76.52), junio (76.41) y agosto (76.20), lo que indica un color más claro (más cercano al blanco) para los polvos de mucílago liofilizados. Hong e Ibrahim, (2013) indicaron que el mucílago de *Pereskia bleo* mostró valores altos de L^* con 68.81 generando un color blanquecino en el polvo. Los valores negativos de a^* y los valores positivos de b^* son característicos del color verde-amarillo debido al contenido de clorofila del mucílago. Los valores positivos de a^* en el mucílago Va y Ou indican una ligera coloración marrón que se atribuye a las alteraciones debidas al proceso de calentamiento durante la extracción del mucílago. Esto provocó un cambio de color verde oliva a marrón en las muestras, debido a la formación de feofitina. Los valores de a^* (indicación de los colores verde y amarillo) variaron de -3.36 a -6.68 y los valores de b^* (coloración más brillante, más oscura y más verde) variaron de 20.96 a 24.99. Esto fue informado por du Toit, de Wit y Arno, (2018).

Cuadro 2.1. Análisis fisicoquímico de mucilagos extraídos de diferentes cultivares de nopal (45 días de madurez) cultivados en un sistema hidropónico.

ANÁLISIS	CF1	Vi	Jap	Ou
pH	5.19 ± 0.00 ^d	5.58 ± 0.03 ^a	5.47 ± 0.04 ^b	5.39 ± 0.02 ^c
°Brix	15.31 ± 0.35 ^d	16.88 ± 0.32 ^b	17.65 ± 0.38 ^a	16.06 ± 0.11 ^c
Color	81.54 ± 0.46 ^a	72.85 ± 0.05 ^b	67.46 ± 0.03 ^c	65.20 ± 1.93 ^d
L^*				
a^*	-4.54 ± 0.05 ^d	0.54 ± 0.67 ^a	-2.29 ± 0.35 ^b	3.09 ± 0.19 ^c
b^*	16.76 ± 1.00 ^d	23.31 ± 0.53 ^a	20.87 ± 0.53 ^c	20.53 ± 3.20 ^{bc}

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$) en fila.

En la Cuadro 2.2. se muestran los resultados obtenidos de la composición química proximal de los mucílagos, expresados en %; respecto a la humedad, Vi fue el que presentó el mayor contenido con 31.26 % y el menor Ou con 5.1 %, superior a lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2014) de 3.44 – 8.27 % y Treviño-Garza *et al.*, (2016) de 7.09 %. La materia seca resultó ser de 68.41 a 94.89 % en los

polvos mucilaginosos. El extracto seco del mucílago sustrajo una fracción mínima de agua después de la extracción de toda el agua contenida a través de un calentamiento realizado en condiciones de laboratorio, ya que es normal que el mucílago presente esta característica debido a la retención de agua en las yemas de pera espinosa durante la nutrición.

En el caso de la proteína cruda los valores oscilaron de 2.58-14.69 % entre los tratamientos; en cuanto al contenido de grasa, el mucílago Jalpa tuvo 1.09 %. Existe una gran variación en el contenido de proteínas en el mucílago, sin embargo, los investigadores Dick *et al.*, (2019) obtuvieron alrededor de 3.55 % en *Opuntia monacantha* (Willd.) También, Lima Junior *et al.*, (2013) y Martin *et al.*, (2017) estimaron aproximadamente el 10.5 y el 19 % de las células mucilaginosas en *P. aculeata*. Los datos anteriores superan nuestros valores debido a la variación del material vegetativo y a la madurez. Los mucílago fueron capaces de adquirir nitrógeno de diversas fuentes, como ácidos nucleicos, nitratos y nitritos que fueron reservados por el nopal. Madera *et al.*, (2018) mencionaron un valor de proteínas del 6.30%. Estos valores son similares a los valores obtenidos en el presente trabajo y difieren en la nutrición de la planta.

La ceniza total se encontró en el rango de 14.70 – 33.26 %, doble a lo evaluado por Rodríguez *et al.*, (2014) y Treviño-Garza *et al.*, (2016). Sin embargo, Madera *et al.*, (2018) informaron que la composición de las cenizas del mucílago de *O. spinulifera* es de 1.21%, valor más bajo en comparación con el de nuestros resultados. En un trabajo similar realizado en mucílago de *Opuntia ficus-indica* por Espino *et al.*, (2010) señalaron valores del 20.08%. Du Toit y de Wit y Arno, (2018) presentaron valores del 16.8 al 21 %. Esto es muy importante porque en las cenizas hay residuos minerales como P, K, Ca, Mg, S, Na, Cu, Zn, Fe, Mn y B, que están presentes en las plantas y adecuadamente en el mucílago en diferentes concentraciones. Los altos valores de las cenizas en los cladodios se pueden atribuir a la alta salinidad del suelo y a la biodisponibilidad mineral en los sistemas hidropónicos y tradicionales. Las diferencias fueron significativas en la alta disponibilidad y fijación de estos minerales en la roca volcánica donde se alimentaron los cladodios madre.

La fibra bruta fue menor en el mucílago Vi (30.78) seguido de CF1 (55.09). Dick *et al.* (2019) encontraron en su estudio aproximadamente 55.33 % de fibra soluble y 3.47 % de fibra insoluble en los mucílago de *Opuntia monacantha* (Willd.). El valor de fibra cruda (0.2 %) reportado por du Toit, de Wit y Arno, (2018) en polvos de mucílago fue menor que el obtenido de *O. ficus-indica* y mucílago de *ondulata* en este estudio. Los mucílago extraídos del nopal son muy ricos en fibra dietética, pero la información sobre el contenido de no solubilización y solubilización en las fibras que componen estos polímeros es aún limitada. Esta variación se produce a mayor concentración a medida que el nopal madura, ya que las fibras varían en su estructura y tamaño y, por lo tanto, en la no solubilización o solubilización en el medio acuoso. Los mucílago tienen moléculas orgánicas que se consideran

"hidrofóbicas" e hidrofílicas porque sus enlaces covalentes de hidrógeno y carbono no están polarizados y esto provoca que separe a las moléculas de agua polarizadas. Esta misma propiedad los hace insolubles en agua o totalmente solubles.

El extracto libre de Nitrógeno se logró observar de 7.78 – 49.27 %; conforme a la energía bruta mayor almacenada por Vi con 4417 y Jap con 1193.33 kcal/kg. En el análisis bromatológico evaluado se mostraron diferencias significativas en los mucílagos ($p \leq 0.05$). En general, estas diferencias revelaron el comportamiento de las células mucilaginosas presentes en los cultivares de nopal y la acumulación de componentes evaluados, a medida que el cladodio vaya madurando, el contenido nutrimental va incrementando, ya que va reservando energía.

Cuadro 2.2. Composición proximal del mucílago extraído de diferentes cultivares de nopal (45 días de madurez) cultivados en un sistema hidropónico.

COMPONENTE	CF1	Vi	Jap	Ou
Humedad (%)	10.52 \pm 0.09 ^b	31.26 \pm 0.25 ^a	6.05 \pm 0.05 ^c	5.10 \pm 0.10 ^d
Materia seca (%)	89.39 \pm 0.01 ^c	68.41 \pm 0.08 ^c	94 \pm 0.10 ^b	94.89 \pm 0.01 ^a
Proteína cruda (%)	10.30 \pm 0.01 ^c	3.76 \pm 0.05 ^d	2.58 \pm 0.03 ^e	14.69 \pm 0.00 ^a
Grasa cruda (%)	1.36 \pm 0.05 ^c	1.39 \pm 0.01 ^b	1.09 \pm 0.0 ^d	1.38 \pm 0.02 ^{bc}
Cenizas (%)	19.69 \pm 0.01 ^b	14.70 \pm 0.01 ^e	33.26 \pm 0.05 ^a	16.89 \pm 0.005 ^d
Fibra bruta (%)	37.19 \pm 0.01 ^d	30.78 \pm 0.02 ^e	55.09 \pm 0.00 ^a	39.28 \pm 0.02 ^c
Extracto libre de nitrógeno (%)	31.19 \pm 0.01 ^b	49.27 \pm 0.04 ^a	7.78 \pm 0.19 ^e	27.63 \pm 0.11 ^c
Energía bruta (kcal/kg)	3373.66 \pm 0.57 ^d	4417.00 \pm 1.73 ^a	1193.33 \pm 1.15 ^e	3612.50 \pm 0.86 ^b

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$) en fila.

2.6.4. Contenido de fenoles

Los resultados de varianza ($p \leq 0.05$) para los polifenoles totales fueron estadísticamente diferentes, el mucílago Vi siendo el más alto con 1,311.83 y el menor fue Jap de 565.76 mg EAG g⁻¹. Keshani-Dokht *et al.* (2018) reportaron valores de 390, 900 y 1,300 mg EAG g⁻¹ para concentraciones acuosas de mucílagos de *Cordia myxa* a 0.1, 0.3 y 0.5 mg/mL, respectivamente. Santos Zea, (2010) reportaron

contenidos fenólicos en extractos de *Opuntia* spp. de 0.31 para Ja, 0.90 de Ou y 0.59 mg EAG g⁻¹ de Vi. Otros datos reportados de mucílagos fenólicos totales en la literatura se han reportado valores para la especie OFI por Lee *et al.*, (2002) de 180.3 ± 18.6 mg EAG g⁻¹ extracto en base seca para un extracto etanólico liofilizado de la variedad *Saboten*. En otro reporte se obtuvieron 200 mg EAG 100 g⁻¹ de peso fresco para otra variedad (Milpa Alta) de OFI, lo que equivale a 30.81mg EAG g⁻¹ en base seca (Corral- Aguayo *et al.*, 2008). Los resultados obtenidos de los mucílagos de nopal fueron superiores a los reportados con otro tipo de especies con características similares. Adicionalmente, se observó que las concentraciones estudiadas dependen del estado del material polimérico. A medida que aumenta la concentración de la muestra a determinar, la cantidad de polifenoles incrementa.

2.6.5. Actividad antioxidante a través de ABTS^{•+}, DPPH[•] y FRAP

Los resultados de varianza ($p \leq 0.05$) para los mucílagos fueron estadísticamente diferentes. Vi sobresalió con 6,301.12 y el valor más bajo lo tuvo CF1 con 2,242.95 mg ET g⁻¹. Sangeethapriya y Siddhuraju, (2014) encontraron valores de 298.83 mg ET g⁻¹ en mucílagos provenientes de *Zizyphus mauritiana*, estos son inferiores a los nuestros. La capacidad antioxidante de los mucílagos depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. El mucílago de nopal, demostrado en el Cuadro 2.3., mostró valores altos de capacidad antioxidante, esto puede deberse a la composición química de las células mucilaginosas, entre ellas, carotenos, fenólicos y antocianinas. Estos pueden tener un efecto sinérgico entre los compuestos bioactivos que conforman al mucílago de nopal por cada cultivar.

Los resultados de varianza ($p \leq 0.05$) para la capacidad antioxidante fueron estadísticamente diferentes entre los tratamientos. Ou arrojó el máximo valor de capacidad antioxidante (739.54 mg EAG g⁻¹), seguido de Vi con 358.26 mg EAG g⁻¹. Sin embargo, Sangeethapriya y Siddhuraju, (2014) reportaron 5,270 mg EAG g⁻¹, valores más altos a los nuestros. De acuerdo a los resultados obtenidos, podremos decir que uno de los compuestos que pudo haberse presentado en el rango de los valores fue un compuesto nitrogenado, arabinosa. El monosacárido mencionado de cinco carbonos se encuentra en una proporción en el mucílago de (47 %). Las diferencias obtenidas pudieron deberse a las composiciones químicas de cada polímero con determinada especie (*Opuntia* spp.).

Los resultados de varianza ($p \leq 0.05$) para la evaluación del potencial reductor férrico por el ensayo FRAP de los mucílagos de nopal fueron distintos entre sí. Vi presentó 536.26 mg EAG g⁻¹ y el mínimo lo obtuvo Jap con 125.79 mg EAG g⁻¹. Ekrami *et al.*, (2019) tuvieron contenidos fenólicos de 30.08, 108.99 y 3,230 mg EAG g⁻¹. Nuestros datos coinciden a los reportados por los autores mencionados

en otras especies de plantas a las cuales se les extrajeron los mucílagos. El contenido fenólico depende de la naturaleza química y estructural que tengan los polímeros, ya que probablemente varían al reflejar la jerarquía real de actividades y características cinéticas de los antioxidantes presentes en las muestras. Los mucílagos tienen un alto potencial antioxidante y son atribuidos a los compuestos fitoquímicos (ramnosa, xilosa y ácido galacturónico).

Cuadro 2.3. Contenido fenólico y actividad antioxidante por el método de DPPH•, ABTS•+ y FRAP de los mucílagos en polvo con 45 días de maduración.

MUCILAGOS	PT (mg EAG g ⁻¹)	DPPH• (mg EAG g ⁻¹)	ABTS•+ (mg ET g ⁻¹)	FRAP (mg EAG g ⁻¹)
CF1	593.81 ± 2.85 ^d	199.58 ± 0.23 ^d	2,242.95 ± 0.99 ^b	216.38 ± 0.47 ^d
Vi	1,311.83 ± 2.36 ^c	358.26 ± 0.53 ^c	6,301.12 ± 0.61 ^b	536.26 ± 0.84 ^b
Jap	565.76 ± 1.50 ^a	196.86 ± 1.52 ^b	4,875.04 ± 0.72 ^a	125.79 ± 0.42 ^a
Ou	687.14 ± 1.17 ^b	739.54 ± 0.32 ^a	3,140.05 ± 0.10 ^c	181.02 ± 0.92 ^c

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$) en fila.

2.6.6. Cristalinidad y constituyentes de enlace químico en mucílagos

2.6.7. Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros FTIR de los mucílagos hidrófilos en polvo de Vi y CF1 sin fibra con 45 días de maduración se presentan en la Figura 2.4. La primera banda que osciló entre 3400 y 300 cm⁻¹ representa la región -OH que coincide con la información en otra parte (Cai *et al.*, 2008); Contreras-Padilla *et al.*, (2016); Mejías Díaz *et al.*, (2013); Wang *et al.*, (2007). El grupo hidroxilo es característico de la acumulación de ácido málico en el clorenquima y el parénquima, algunos de los ácidos más abundantes y que son fácilmente metabolizables por los microorganismos que atacan al cactus. Además, el grupo -OH se genera por síntesis química para la extracción de mucílago por precipitación (Banda 1) La segunda y tercera bandas, que varían entre 3000 – 2800 cm⁻¹, son representativas de los grupos -CH, -CH₂ y -CH₃, que coinciden con los reportados por Monroy *et al.*, (2017) y Contreras-Padilla *et al.*, (2016). Su presencia se explica por los grupos carboxilo y xilano almacenados en capas lignocelulicas de los mucílagos antes de ser recuperados (2 y 3 bandas). En las bandas 1500 cm⁻¹, el grupo C = C con baja intensidad es visible, lo que coincide con las vibraciones aromáticas y de alqueno a través de la interpretación de Robinson y Robinson, (2000) (Bandas 4-5). Las frecuencias de las bandas >1000 cm⁻¹ se identificaron como los enlaces flexionados de HCH que están presentes isoméricamente, posiblemente en -CHO en la formación de arabinosa y grupos de carbohidratos dispersos como manosa y glucosa (Cai *et al.*, 2008; Mejías Díaz *et al.*, 2013; Monroy *et al.*, 2017) en

bandas 6-7. En un estudio similar que usó mucílago obtenido de cladodios de *Opuntia spinulifera*, Madera *et al.*, (2018) informaron la presencia de unidades de carbohidratos. La banda 8 que oscila en mucílagos > 500 cm^{-1} está asociada con la β -D-glucosa. El último espectro FTIR de las bandas 9-10 se atribuyó al enlace N-H y -OH respectivamente que coinciden con los informes de Monrroy *et al.*, (2017); Smith, (1998); Zhao *et al.*, (2017). Con respecto a los resultados obtenidos de la caracterización de los diferentes grupos funcionales presentes en las muestras, se observó muy poca intensidad de las bandas generadas por los mucílagos con fibra de los cultivares Vi y CF1 en comparación con los materiales sin fibra. Se puede deducir que la maduración de los mucílagos no influye significativamente la intensidad de las bandas de los grupos funcionales.

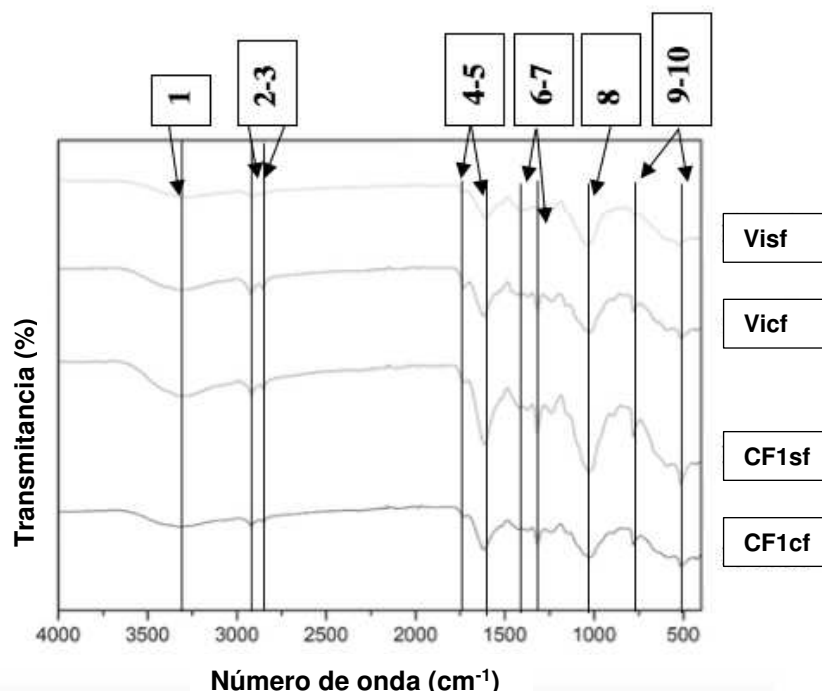


Figura 2.4. Espectro FTIR de los polvos de mucílagos *Opuntia* spp. de nopal a 45 días de maduración. Visf: Villanueva sin fibra; Vicf: Villanueva con fibra; CF1sf: Copena F1 sin fibra y CF1cf: Copena F1 con fibra.

2.6.8. Fluorescencia de Rayos X

La Figura 2.5. muestra los patrones de difracción incinerados de los polvos de mucílago hidropónico de nopal con y sin fibra. Los mucílagos con fibra tienen los picos más largos en comparación con los materiales no fibrosos, esto podría deberse al mayor tamaño de partícula que la lente podría inhibir la percepción de los compuestos cristalizados. En general, la expresión de difracción de los mucílagos coincide con las reportadas por Contreras-Padilla *et al.*, (2016) y Marin *et al.*, (2018), aunque hay variaciones en algunos picos y esto dificulta la interpretación de los compuestos. La variación se debe al tipo de cultivar donde se extrajeron los polímeros, la madurez y la acumulación de fibra en estos.

En el primer pico del mucílago, se presenta el compuesto "Yodo", un elemento químico que previene enfermedades como el bocio y el cretinismo. La "celulosa" por su parte, se identificó con mayor intensidad en los picos de los mucílagos con fibra en comparación con las muestras sin exceso de fibra. Las muestras de celulosa se analizan rutinariamente mediante difracción de rayos X para determinar su tipo de cristal en una estructura o más cristalizadas. Sin embargo, las intensidades y separaciones en estas diferencias de prolongación en los picos no coinciden con las reportadas por French (2014) porque las condiciones de análisis y manipulación de los polvos no fueron las mismas, así como las variaciones en el tamaño de las fibras. Esta es la razón por la cual arrojan discrepancias en las fuerzas de rango. Para la absorción del cuerpo, el calcio está disponible en el nopal de cactus a menos que tengan altas concentraciones de ácido oxálico o fibra dietética, ya que limitan su formación cuando son secuestrados como oxalatos, evitando su absorción por el metabolismo (Valenzuela *et al.*, 2018). Este patrón de difracción coincide con el trabajo realizado por Contreras-Padilla *et al.*, (2016); de Souza *et al.*, (2016) aunque la maduración de los mucílagos y/o cultivares es diferente de los del presente estudio. El "silicio" establecido en el tercer pico fue absorbido en los mucílagos formados por nopal a través de la nutrición en forma de ácido monosilícico mediante la asimilación de nutrientes capturados durante el ciclo de cultivo hidropónico. En el cuarto pico, el "sulfato de calcio" que se ha identificado en la estructura del parénquima nopal, se forman cristales de oxalato de calcio. Estos se clasifican en cuatro tipos por su morfología: rafidia, drusas, estiloides y prismas (Bárcenas *et al.*, 2011; Madera *et al.*, 2018). El "oxalato de hidrógeno hidrato de potasio" se considera un antinutriente que se encuentra en la forma de cristales de calcio o forma libre y cambio dependiendo de la madurez del mucílago (Contreras-Padilla *et al.*, 2016; Nerkar y Gattani, 2012). El "carbonato de calcio" en los mucílagos fibrosos puede ocurrir en tres polimorfos cristalinos anhidros como la calcita, aragonita y vaterita ordenados por su estabilidad termodinámica (Payne *et al.*, 2007). El último pico mostró el "Hidruro de calcio" en los mucílagos con fibra, pero el mismo compuesto estaba ausente en los mucílagos sin fibra Trachtenberg y Mayer (1982) informaron que se observan depósitos de calcio de diferentes formas dentro de la vacuola del parénquima del cladodo. Esto podría deberse a la expresión de oxalatos cristalizados directamente en los tubos fibrilares de los tejidos nopales donde se encuentra el mucílago almacenado.

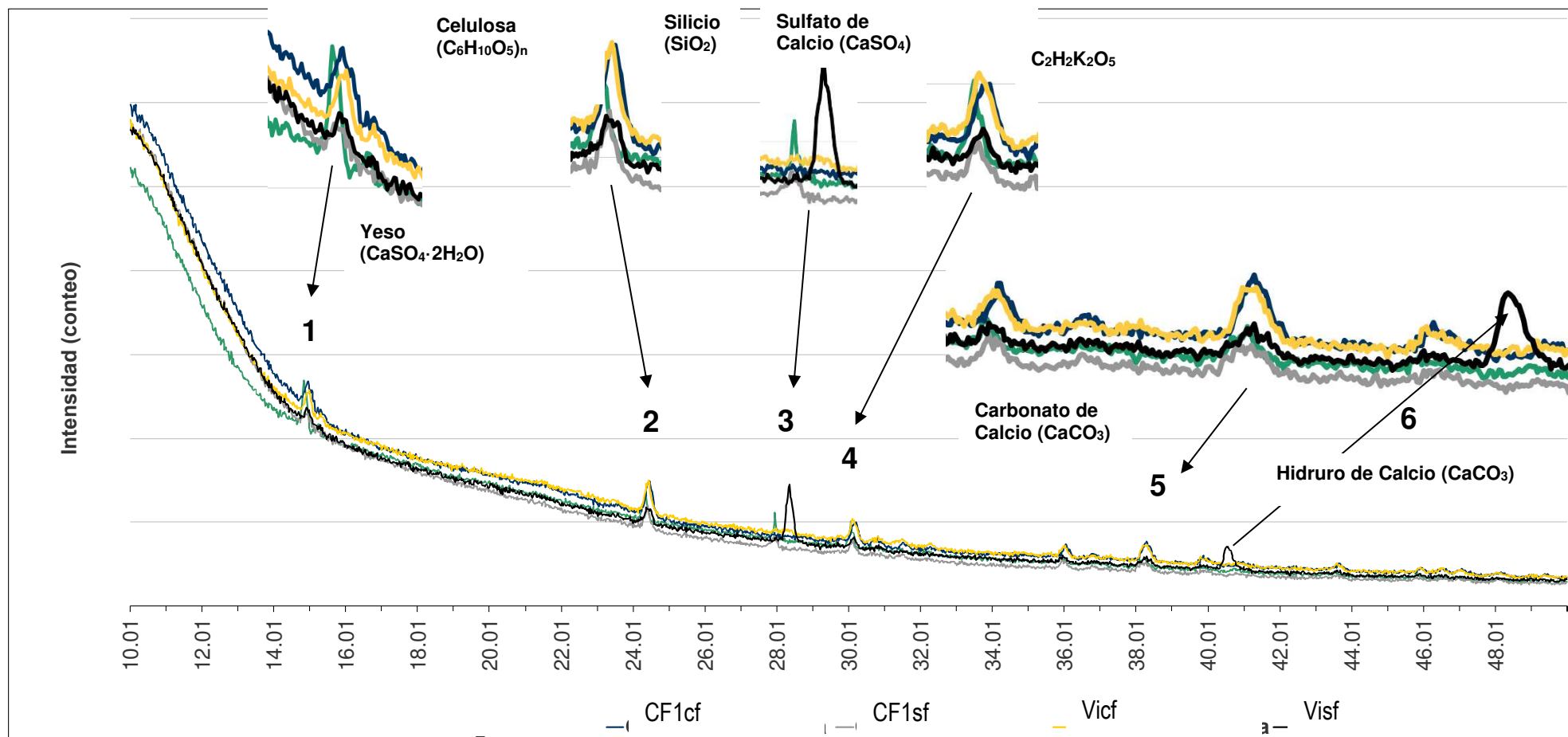


Figura 2.5. Patrones de difracción de muestras incineradas de cuatro tipos de mucilagos con 45 días de madurez.

Cuadro 2.4. Conteo vs $^{\circ}$ 2-Theta de los patrones de difracción de tres tipos de mucílagos con 45 días de madurez. Visf: Villanueva sin fibra; Vicf: Villanueva con fibra; CF1sf: Copena F1 sin fibra y CF1cf: Copena F1 con fibra.

MUCÍLAGO	SECCIÓN 1	SECCIÓN 2	SECCIÓN 3	SECCIÓN 4	SECCIÓN 5	SECCIÓN 6
CF1cf	14.93 $^{\circ}$ - 13,849.80	24.45 $^{\circ}$ - 7,866.41	28.39 $^{\circ}$ - 4665.93	30.21 $^{\circ}$ - 5,291.55	38.31 $^{\circ}$ - 4,222.32	40.01 $^{\circ}$ - 1923.40
CF1sf	14.87 $^{\circ}$ - 11,997.01	24.43 $^{\circ}$ - 6,299.98	28.37 $^{\circ}$ - 3,828.39	30.05 $^{\circ}$ - 4,355.61	36.09 $^{\circ}$ - 3,188.49	41.90 $^{\circ}$ - 1903.0
Vicf	15.01 $^{\circ}$ - 13,159.58	24.45 $^{\circ}$ - 7,866.41	28.35 $^{\circ}$ - 4,900.55	30.17 $^{\circ}$ - 5,490.47	38.29 $^{\circ}$ - 4,081.30	41.22 $^{\circ}$ - 1899.40
Visf	14.99 $^{\circ}$ - 12,128.44	24.35 $^{\circ}$ - 6,177.55	28.33 $^{\circ}$ - 7,596.49	30.19 $^{\circ}$ - 4,464.18	40.59 $^{\circ}$ - 3,906.55	41.22 $^{\circ}$ - 3,829.12

Visf: Villanueva sin fibra; Vicf: Villanueva con fibra; CF1sf: Copena F1 sin fibra y CF1cf: Copena F1 con fibra.

2.7. Conclusiones

En el presente estudio, el uso de un sistema hidropónico para el cultivo de nopal y la producción de mucílago fue exitoso. Fue posible producir mucílago en gran cantidad y de alta calidad. Los cuatro cultivares producen mucílago de alta calidad, sin embargo, el cultivo condiciona 30 plantas m^{-2} y la caracterización fisicoquímica, proximal, antioxidante, FTIR y de difracción de rayos X permiten definir que CF1 es la mejor alternativa para la producción de biomasa y mucílago. Sin embargo, Vi tiene altos niveles de polifenoles totales (1311.83 mg EAG g^{-1}) con una alta capacidad antioxidante ABTS \bullet^+ (6301.12 mg ET g^{-1}), FRAP (536.26 mg EAG g^{-1}) y DPPH \bullet (358.26 mg EAG g^{-1}) Además, una gran cantidad de lípidos (1.39%), extracto libre de nitrógeno (49.27%) y contenido energético (4417.00). Así como la identificación de los grupos funcionales característicos del mucílago (-OH, -CH, -CH₂, -CH₃, C = C, HCH, -CHO) y yeso, celulosa, SiO₂ CaSO₄, C₂H₂K₂O₅, CaCO₃ y CaH₂ por X de difracción de rayos. Este estudio proporcionó una tecnología novedosa, rentable y aplicable en cualquier región sin la necesidad de grandes extensiones de tierra para producir cactus y mucílago de alta calidad con propiedades bioactivas. Actualmente, se está realizando un estudio adicional de la aplicación del mucílago para la formulación de películas comestibles.

2.8. Bibliografía

1. A.O.A.C. (1984). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. E.U.A. 14ª Ed. Washington, D.C.
2. Ballesteros, L.F., Cerqueira, M.A., Teixeira, J.A., Mussatto, S.I. (2018). Production and physicochemical properties of carboxymethyl cellulose films enriched with spent coffee grounds polysaccharides. *Int. J. Biol. Macromol.* 106, 647–655
3. Bárcenas, R.T., Yesson, C., Hawkins, J.A. (2011). Molecular systematics of the *Cactaceae*. *Cladistics*. 27, 470–489
4. Benzie, I.F.F., Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76
5. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28, 25–30.
6. Cai, W., Gu, X., Tang, J. (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydr. Polym.* 71, 403–410.
7. Castro-López, C., Ventura-Sobrevilla, J.M., González-Hernández, M.D., Rojas, R., Ascacio-Valdés, J.A., Aguilar, C.N., Martínez-Ávila, G.C.G. (2017). Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. *Food Chem.* 237.
8. Contreras-Padilla, M., Rodríguez-García, M.E., Gutiérrez-Cortez, E., Valderrama-Bravo, M. del C., Rojas-Molina, J.I., Rivera-Muñoz, E.M. (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus* mucilage at three different maturity stages of cladode. *Eur. Polym. J.* 78, 226–234.
9. Corral-Aguayo, R.D.; Yahia, E.M.; Carrillo-Lopez, A.; Gonzalez-Aguilar, G. (2008) Correlation between Some Nutritional Components and the Total Antioxidant Capacity Measured with Six Different Assays in Eight Horticultural Crops. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 10498-10504.
10. de Souza, M.T.F., de Almeida, C.A., Ambrosio, E., Santos, L.B., Freitas, T.K.F. de S., Manholer, D.D., de Carvalho, G.M., Garcia, J.C. (2016). Extraction and use of *Cereus peruvianus* cactus mucilage in the treatment of textile effluents. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 67, 174–183.
11. Deogade, U. M., Deshmukh, V. N., & Sakarkar, D. M. (2012). Natural gums and mucilage's in NDDS: Applications and recent approaches. *J. PharmTech Research*. 4; 799–814.
12. Dick, M., Dal Magro, L., Rodrigues, R.C., Rios, A. de O., Flôres, S.H. (2019). Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance. *Int. J. Biol. Macromol.* 123, 900–909.
13. Du Toit, A., De Wit, M., Fouché, H.J., Taljaard, M., Venter, S.L., Hugo, A. (2019). Mucilage powder from cactus pears as functional ingredient: influence of cultivar and harvest month on the physicochemical and technological properties. *J. Food Sci. Technol.* 56, 2404–2416.
14. Ekrami, Mohammad & Emam-Djomeh, Zahra & Ghoreishy, Seyed Ali & Najari, Zahra & Shakoury, Nooshin. (2019). Characterization of a high-performance edible film based on Salep mucilage functionalized with pennyroyal (*Mentha pulegium*). *International Journal of Biological Macromolecules*. 133. 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.136.
15. Espino-Díaz, M., De Jesús Ornelas-Paz, J., Martínez-Téllez, M.A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G. V., Zamudio-Flores, P.B., Olivas, G.I. (2010). Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage

- of *Opuntia ficus-indica* (L.). J. Food Sci. 75, E347–E352.
16. French, A.D., (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose* 21, 885–896.
 17. Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M.J. (2005). Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived Products. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1370–1373.
 18. Goldstein G, Nobel PS. (1991). Changes in osmotic pressure and mucilage during low temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *PlantPhysiol.* 97:954–61.
 19. Hong, N.T., Ibrahim, N.H. (2013). Extraction and characterization of mucilage from leaves of *Pereskia bleo* (*Rose cactus*). *J. Teknol. dan Ind. Pangan.* 23, 210–216.
 20. Huang, Z., Huc, Z. Gutterman, Y. (2000). Structure and function of mucilaginous achenes of *Artemisia monosperma* inhabiting the negev desert of israel. *Isr. J. Plant Sci.* 48, 255–266
 21. Karazhiyan, H., Razavi, S.M.A., Phillips, G.O. (2011). Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hydrocoll.* 25, 915–920.
 22. Keshani-Dokht, S., Emam-Djomeh, Z., Yarmand, M.-S., Fathi, M. (2018). Extraction, chemical composition, rheological behavior, antioxidant activity and functional properties of *Cordia myxa* mucilage. *Int. J. Biol. Macromol.* 118, 485–493.
 23. Lee, J-C.; Kim, H-R.; Kim, J.; Jang, Y-S. (2002). Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten. *J. Agric. Food Chem.* 50, 6490- 6496.
 24. León-Martínez, F.M., Rodríguez-Ramírez, J., Medina-Torres, L.L., Méndez Lagunas, L.L., Bernad-Bernad, M.J. (2011). Effects of drying conditions on the rheological properties of reconstituted mucilage solutions (*Opuntia ficus-indica*). *Carbohydr. Polym.* 84, 439–445.
 25. Liliana Santos Zea (2010). Análisis de compuestos fenólicos en harina de nopal (*Opuntia* spp.) y su efecto in vitro en secreción de insulina. Tesis de Maestría. Tecnológico de Monterrey, México.
 26. Lima Junior, F.A., Conceição, M.C., Vilela de Resende, J., Junqueira, L.A., Pereira, C.G., Torres Prado, M.E. (2013). Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. *Food Hydrocoll.* 33, 38–47.
 27. Madera-Santana, T.J., Vargas-Rodríguez, L., Núñez-Colín, C.A., González-García, G., Peña-Caballero, V., Núñez-Gastélum, J.A., Gallegos-Vázquez, C., Rodríguez-Núñez, J.R. (2018). Mucilage from cladodes of *Opuntia spinulifera* Salm-Dyck: chemical, morphological, structural and thermal characterization. *CyTA - J. Food.* 16, 650–657.
 28. Marin, F., Dovčiak, M., Kammoun, E.S. (2018). Contribution of parsec-scale material on to the polarized X-ray spectrum of type 1 Seyfert galaxies. *Mon. Not. R. Astron. Soc.* 478, 950–960 (2018).
 29. Martin, A.A., de Freitas, R.A., Sasaki, G.L., Evangelista, P.H.L., Sierakowski, M.R. (2017). Chemical structure and physical-chemical properties of mucilage from the leaves of *Pereskia aculeata*. *Food Hydrocoll.* 70, 20–28.
 30. Mejías Díaz, K.D., Flores Reyes, T., Ponce Cabrera, L., Domínguez Sánchez, M., Arronte García, M., de Posada Piñán, E. (2013). Characterization of laser-treated *Opuntia* using FT-IR spectroscopy and thermal analysis. *Appl. Phys. A.* 112, 221–224.
 31. Monroy-Gutiérrez, T., Martínez-Damián, M.T., Barrientos-Priego, A.F., Gallegos-Vázquez, C., Rodríguez-Pérez, J.E., Colinas-León, M.T.B. (2017). Evaluation of some physical and chemical characteristics of fruits of xocotuna, tuna and xoconostle in postharvest. *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas.* 8, 187–195.
 32. Monroy, M., García, E., Ríos, K., García, J.R. (2017). Extraction and Physicochemical Characterization of

- Mucilage from *Opuntia cochenillifera* (L.) Miller. J. Chem. 1–9.
33. Muñoz López C.N., Rodríguez González F., Pérez González J. (2016). Caracterización reológica de mucílago de *Opuntia ficus-indica* en flujo cortante. Tesis de Doctorado. División de Estudios de Posgrado. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. México.
 34. Nerkar, P.P., Gattani, S.G. (2012). Cress seed mucilage based buccal mucoadhesive gel of venlafaxine: in vivo, in vitro evaluation. J. Mater. Sci. Mater. Med. 23, 771–779.
 35. Payne, S.R., Heppenstall-Butler, M., Butler, M.F. (2007). Formation of Thin Calcium Carbonate Films on Chitosan Biopolymer Substrates. Cryst. Growth Des. 7, 1262–1276.
 36. Rim Gheribi, Laura Puchot, Pierre Verge, Najeh Jaoued-Grayaa, Mohamed Mezni, Youssef Habibi and Khaoula Khwaldia (2018). Development of plasticized edible films from *Opuntia ficus-indica* mucilage: A comparative study of various polyol plasticizers. J. Carbohydrate Polymers. 190; 204–211.
 37. Rodríguez-González, S., Martínez-Flores, H.E., Chávez-Moreno, C.K., Macías-Rodríguez, L.I., Zavala-Mendoza, E., Garnica-Romo, M.G., Chacón-García, L. (2014). Extraction and Characterization of Mucilage From Wild Species of *Opuntia*. J. Food Process Eng. 37, 285–292.
 38. Rojas, R., Alvarez-Pérez, O.B., Contreras-Esquivel, J.C., Vicente, A., Flores, A., Sandoval, J., Aguilar, C.N. (2018). Valorisation of Mango Peels: Extraction of Pectin and Antioxidant and Antifungal Polyphenols. Waste and Biomass Valorization.
 39. Robinson, J.F., Robinson, K.A. (2000) Química Analítica Contemporánea. Prentice Hall.
 40. Sangeethapriya, M., Siddhuraju, P. (2014). Health related functional characteristics and antioxidant potential of mucilage (dietary fiber) from *Zizyphus mauritiana* fruits. Food Sci. Hum. Wellness. 3, 79–88.
 41. Siddhuraju, P., Becker, K. (2003). Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts of Total Phenolic Constituents from Three Different Agroclimatic Origins of Drumstick Tree (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. J. Agric. Food Chem. 51, 2144–2155
 42. Smith, B.C. (1988). Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach. CRC Press. Taylor & Francis Group.
 43. Trachtenberg, S., Mayer, A.M. (1980). Biophysical properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. Phytochemistry. 21, 2835–2843.
 44. Treviño-Garza, M.Z., García, S., Heredia, N., Alanís-Guzmán, M.G., Arévalo-Niño, K. (2017). Layer-by-layer edible coatings based on mucilages, pullulan and chitosan and its effect on quality and preservation of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). Postharvest Biol. Technol. 128, 63–75.
 45. Valenzuela, R.Z., Castorena, E.V.G., Castorena, M.D.C.G., Sáenz, E.O., Gallegos, S. de J.M., Rosa, R.C. de la, Alvarado, R.E.V. (2018). Characterization CaCO₃ and CaC₂O₄ with microphotographic analysis in *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. Rev. Mex. Ciencias Agrícolas. 9, 1524–1531.
 46. Van den Berg, R., Haenen, G.R.M.M., van den Berg, H., Bast, A. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem. 66, 511–517.
 47. Vargas R., L.; Arroyo F., G.; Herrera Méndez, C. H.; Pérez N., A.; García V., M.I. y Rodríguez N., J.R. (2016). Propiedades físicas del mucílago de nopal. J. Multidisciplinary Scientific.

48. Villarreal F., Rojas P., Arellano, V. y Moreno J. (1963). Estudio químico sobre seis especies de nopales (*Opuntia* spp.). *Ciencia mexicana*. 22:59.
49. Wang, L., Dong, W., Xu, Y. (2007). Synthesis and characterization of hydroxypropyl methylcellulose and ethyl acrylate graft copolymers. *Carbohydr. Polym.* 68, 626–636.
50. Zhao, X., Qiao, L., Wu, A.-M. (2017). Effective extraction of *Arabidopsis* adherent seed mucilage by ultrasonic treatment. *Sci. Rep.* 7, 40672.



CAPÍTULO 3

Películas a base de pectina con incorporación de mucílago hidropónico de nopal: caracterización fisicoquímica

Submission article: Pectin-based films loaded with nopal hydroponic mucilages: physical-chemical characterization, Food Hydrocolloids, 2019

Brenda Luna-Sosa^a, Miguel A. Cerqueira^b, Ana G. Azevedo^b, Lorenzo M. Pastrana^b, Humberto Rodríguez-Fuentes^a, Guillermo C.G. Martínez-Ávila^a & Romeo Rojas^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Research Center and Development for Food Industries, School of Agronomy. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

^b International Iberian Nanotechnology Laboratory, Av. Mestre José Veiga s/n, 4715-330 Braga, Portugal.

*Correo electrónico: romeo.rojasmln@uanl.edu.mx

3.1. Resumen

El nopal es una fuente potencial de mucílago con gran importancia en la industria de alimentos. El objetivo del trabajo fue elaborar y caracterizar películas comestibles a base de mucílago de nopal CF1 y Vi (con y sin fibras; 2.5% p/v), pectina (2.0% p/v) y glicerol (0.5% p/v) como control se utilizaron películas sin mucílago. Las películas a base de mucílago mostraron similitud en apariencia física, permeabilidad y solubilidad. Sin embargo, la fibra incrementó la luminosidad, los valores de b^* y la opacidad. Las mejores propiedades mecánicas se mostraron en las películas control, seguidas por CF1sf y Visf. La presencia de fibra disminuyó el módulo de Young y la resistencia a la tracción. La espectroscopia de infrarrojo evidenció señales similares en cuanto a frecuencia e intensidad, característicos de polisacáridos pécticos. El análisis termogravimétrico evidenció que la presencia de mucílago incrementa significativamente la temperatura de degradación térmica de las películas.

Palabras clave: Mucílago Copena F1, Villanueva, pectina, fibras.

3.2. Abstract

The nopal is a potential source of mucilage with great importance in the food industry. Therefore, the purpose of this project was to elaborate and characterize edible films based on CF1 and Vi nopal mucilage (with and without fibers, 2.5% w/v), pectin (2.0% w/v) and glycerol (0.5% w/v) as a control, films without mucilage were used. The films based on mucilage showed similarity in physical appearance, permeability and solubility. However, fiber increased luminosity, b^* values and opacity. The best mechanical properties were shown by the control films, followed by CF1 and Vi without fiber. The presence of fiber decreased Young's modulus and tensile strength. Infrared spectroscopy showed similar signals in terms of frequency and intensity, characteristic of pectic polysaccharides. The thermogravimetric analysis showed that the presence of mucilage.

Keywords: Copena F1 mucilage, Villanueva, pectin, fibers.

3.3. Introducción

El cultivar CF1 se denomina “de triple propósito”, este término hace referencia a la producción de nopal verdura para el consumo humano, fruto (tuna) y forraje. Por otra parte, Vi se considera únicamente para una aplicación, los brotes de cladodio madre son utilizados como vegetal. Los cladodios de nopal contienen una cutícula gruesa de color blanco en la parte interna y con cavidades de capas celulísicas esparcidas que constituyen al colénquima y clorénquima, las cuales conforman al parénquima, productoras del mucílago. Entre estos tejidos se encuentran células con cristales de oxalato (drusas) y fibras solubles e insolubles en un medio acuoso. Los mucílagos son una fuente funcional que tienen aplicaciones en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética. En este apartado nos enfocaremos al área alimentaria, ya que una de las propiedades que caracterizan a este carbohidrato es la absorción de agua. De acuerdo a la anterior propiedad mencionada, los mucílagos pueden ser utilizados en la elaboración de películas o recubrimientos para alargar la vida de anaquel de productos perecederos antes, durante y después de la cosecha. La tecnología de las películas ha generado un notable crecimiento e impacto en los últimos años, específicamente en las frutas. Este crecimiento se debe al creciente interés en los nuevos materiales que utilizan polímeros de base biológica (Costa *et al.*, 2018). En este contexto, los revestimientos pueden producirse mediante diferentes componentes, como polisacáridos, proteínas y lípidos, con la posible adición de plastificantes y su rendimiento está directamente influenciado con sus características químicas, método de producción, concentración y condiciones ambientales en las que se formulan (Dhanapal *et al.*, 2012). Entre los polímeros, el mucílago ha atraído la atención para el envasado de alimentos y otras actividades de valor agregado debido a que el material es biodegradable, tiene buena capacidad de procesamiento, óptimas propiedades mecánicas y de barrera. Otra característica importante de este polisacárido es su contenido de fibra y calcio, los cuales son determinantes para la dieta humana. Estos componentes están relacionados con la especie, edad y tipo de nutrición de la planta. Adicionalmente estos polisacáridos presentan minerales en forma cristalizada (Contreras *et al.*, 2011). En relación a las películas, el mucílago requiere de un polímero base para el mejoramiento de sus propiedades y glicerol para una óptima plastificación. Debido a la similitud en cuanto a su composición, la pectina es un polímero adecuado para incorporarse en las películas a base de mucílago de nopal. Entre algunas características de la pectina destacan la formación de geles cuando el homogalacturonan se retícula para formar una red tridimensional en un medio acuoso. Las propiedades de gelificación de la pectina están determinadas por factores tales como el tipo de pectina, grado de esterificación del metilo, grado de acetilación, temperatura, pH, azúcar y calcio (Williat, Knox y Mikkelsen, 2006). Existen diversos estudios donde se han evaluado las propiedades

fisicoquímicas de películas de mucílago de *Opuntia* spp. con diversos plastificantes adicionales como los polioles, glicerol, nanocelulosas, nisina, aceites esenciales y polisacáridos de origen vegetal en diferentes estadios del nopal, sin embargo, hasta donde sabemos, no hay evidencias del efecto de las fibras sobre las propiedades mecánicas y de barrera, así como de los compuestos que aporta cada especie de mucílago en la formulación de películas acompañadas de pectina. Respecto a lo anterior, en este proyecto de investigación el objetivo fue formular y caracterizar físicas, químicas, mecánicas, de barrera y funcionales de películas de mucílago de nopal de Vi, CF1 con y sin trazas fibrosas.

3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. Ubicación

Este capítulo de investigación se realizó en el International Iberian Nanotechnology Laboratory (INL) en Braga, Portugal.

3.4.2. Material biológico

Se usaron mucílagos hidropónicos de nopal de CF1 y Vi (con y sin trazas fibrosas) con un estado de madurez de 45 días previamente caracterizados (Capítulo 2). Pectina (SIGMA-ALDRICH, Portugal) con descripción de Ácido galacturónico de ≥ 74.0 % de base seca. Glicerol ≥ 99.5 % (Sigma Aldrich). Previo a la formulación de películas de mucílago de nopal se realizó una selección de dos cultivares previamente caracterizados de acuerdo a las características que presentaban como la biomasa seca del material vegetativo obtenido en el sistema hidropónico y el mínimo contenido de fibra bruta. Los mucílagos de CF1 y Vi en comparación con los anteriores tratamientos (Jap y Ou) presentaron valores de 31 a 38 % de fibra bruta, por lo cual, es de suma importancia en la elaboración de películas, ya que al mezclar los componentes base fue difícil homogeneizar el polvo y la materia fibrosa se hace insoluble en el agua de manera que no pueda disolverse en el medio.

3.4.3. Diseño experimental

Un total de 15 unidades experimentales fueron usadas para la formulación y caracterización fisicoquímica de las películas con un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Los tratamientos fueron: 1) Control, siendo, pectina+glicerol (Ctrl), 2) Villanueva con fibra (Vicf), 3) Villanueva sin fibra (Visf), 4) Copena F1 con fibra (CF1cf) y 5) Copena F1 sin fibra (CF1sf).

3.4.4. Formulación de películas

Las concentraciones utilizadas para la formulación de las películas fueron 2 % p/v de pectina como polímero base, 2.5 % p/v del polvo de mucílago de cada cultivar con y sin fibra, más la adición de 0.5 % p/v de glicerol para la gelificación del medio por triplicado para cada tratamiento. La formulación constó en disolver los componentes mencionados a temperatura ambiente 27 °C, eliminar el exceso de burbujas a través de compresión al vacío con agitación 350 rpm por una hora y finalmente verter 5 mL de las soluciones en cajas petri de plástico de 60 mm x 15 mm, 15 mL para cajas de 100 mm x 15 mm y 30 mL en cajas de 140 mm x 15 mm. Las soluciones se secaron a temperatura ambiente por 24 h, posteriormente se desprendieron las películas de su respectivo molde. Las películas de mucílago (Vicf y Visf, así como CF1cf y CF1sf), fueron preconditionadas a 54 ± 1 % a humedad relativa (HR) y 20 ± 1 °C colocándolas en un desecador con 1 kg de solución saturada de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

3.4.5. Caracterización de películas

3.4.6. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) fue realizada en base al método gravimétrico conforme a la ASTM E96-92 (Guillard *et al.*, 2003; McHugh *et al.*, 1993). Las propiedades de transporte más estudiadas en los materiales de embalaje son las permeabilidades. Por lo que, VPA es un parámetro muy importante en los materiales de envasado de alimentos debido a la importancia de controlar el contenido de humedad en los alimentos. Además, este método puede ser evaluado a través de equipamientos baratos y simples (copas selladas con películas en condiciones controladas con HR y temperatura, siendo la pérdida de agua ponderada durante el tiempo) que permite estudiar los mecanismos de transferencia de masa que se empaquetan en diferentes condiciones. La metodología constó en fijar las medidas de las películas de mucílago de 96 mm por triplicado, medir las espesuras de cada una y colocarlas en un desecador con sílica por 24 h con 100 % de HR, 2337 Pa y 20 °C. Posteriormente, las copas de metal fueron llenadas con 32 mL de agua Mili Q y una sin nada. Las películas con los tratamientos fueron colocadas en los copos permeables de metal y selladas de manera que el agua no tuviera contacto con el material biodegradable, se registró el peso en tiempo 0. Después estas fueron pesadas cada dos horas en un período de 10 h. Los valores obtenidos fueron calculados con la siguiente ecuación.

$$\text{VPA} = [(TRVA \times E)/\Delta P] \quad \text{Ec. (1)}$$

donde, TRVA es la tasa de transmisión de vapor de agua medida a través de la película de mucílago, L es la espesura registrada de la película en (mm) y ΔP es la diferencia parcial de la presión de vapor de agua en (Pa) en los dos lados de la película. Se obtuvieron tres réplicas para cada película.

3.4.7. Resistencia de tracción (RT) y Elongación en la rotura (EB)

La resistencia a la tracción (RT) fue la tensión máxima soportada por la película hasta el momento en que se rompió. La elongación en la rotura (EB) se determinó con una máquina de prueba universal Instron Universal Testing Machine (Modelo 4500, Instron Corporation) usando ASTM método estándar D 882-91. Los especímenes (tiras de 120 x 20 mm²) de las películas con mucílagos fueron cortadas, preconditionadas y colocadas en los brazos metálicos de tensión del Texturómetro. La separación inicial de la empuñadura y la velocidad de la cruceta se ajustaron a 100 mm y 5 mm/min, respectivamente. Se analizaron 9 tiras de cada muestra como replicas (Martins, *et al.*, 2012 y Pereira *et al.*, 2010).

3.4.8. Técnicas de muestreo FTIR: Reflectancia total atenuada (RTA)

La espectrometría fue usada para obtener información de las interacciones en los componentes de las películas de mucílagos (Martins *et al.*, 2012). Los espectros FTIR de las películas de mucílagos se registraron con un Perkin-Elmer 16 PC (Boston, EE. UU.), utilizando el modo de reflexión total atenuada (RTA). Cada espectro resultó de 16 exploraciones a una resolución de 4 cm⁻¹ para un rango espectral de 400-4000 cm⁻¹, estas lecturas fueron realizadas a temperatura ambiente.

Para el análisis de los resultados, los espectros se ajustaron mediante curvas utilizando Gaussian y Lorentzian. Para todas las regiones analizadas, se restó una línea de base lineal y la absorbancia se normalizó con respecto al pico máximo para evitar variaciones de intensidad indeseables. Luego, los valores iniciales de las posiciones de los picos se determinaron mediante la deconvolución de Fourier. Los espectros de deconvolución de Fourier se eligieron después de varias pruebas para obtener ajustes razonables y obtener un estrechamiento de banda suficiente para ver los componentes principales de bandas específicas. Todos los tratamientos de datos se realizaron con la versión 4.12 de software Peakfit (SYSTAT software, Richmond, CA) (Pereira *et al.*, 2010).

3.4.9. Color y opacidad

La escala CIELAB se utilizó para determinar los parámetros L^* , a^* y b^* . En este sistema L^* , indicó la luminosidad (que va de negro a blanco), a^* (que va - a^* : verdoso + a^* : rojizo) y b^* (que va de - b^* azul + b^* amarillo), estas son las coordenadas cromáticas. Los valores de " a^{**} " y " b^{**} " se acercan a cero

para los colores neutros y aumentan a medida que el color se vuelve más cromático y saturado. El color fue medido utilizando un colorímetro (Minolta CR 400, Tokyo, Japón). Las películas de mucílago fueron colocadas en el cuadro blanco estándar que registraba el espectro de la luz reflejada y lo convirtió en un conjunto de coordenadas de color (L^* , a^* y b^*). Se tomaron seis medidas de cada ángulo de las películas y se analizaron tres muestras de cada película (Martins *et al.*, 2012).

La opacidad de las películas de mucílago indicaron la cantidad de luz que pasa a través de los materiales: cuanto mayor fuese la opacidad, la cantidad de luz resulta menor. Este parámetro se calcula a partir de las mediciones de reflectancia y fue determinado de acuerdo al método de Hunterlab, tomando en cuenta la relación entre la opacidad de cada muestra en un estándar negro (Y_n) y la opacidad de cada película en un control blanco (Y_b). Se tomaron seis medidas de cada ángulo de las películas y se analizaron tres muestras de cada película con la siguiente ecuación:

$$\text{Opacidad (\%)} = [(Y_n)/(Y_b)] \times 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

donde Y es el valor trémulo de CIE en un negro estándar (Y_n) y (Y_b) el blanco estándar (Martins *et al.*, 2012).

3.4.10. Contenido de humedad (CH)

Se realizaron 3 cortes de 2 cm de diámetro en películas de 60 x 15 mm de cada tipo de muestra. El contenido de humedad se basó en el porcentaje de agua eliminada (pérdida de peso) de una muestra de película. El procedimiento constó en determinar gravimétricamente al secar las muestras de película (aproximadamente 50 mg) a 105 °C en un horno de circulación de aire forzado durante 24 h hasta que alcanzara el peso de equilibrio (Martins *et al.*, 2012). El experimento se realizó en cada muestra (Ctrl, CF1cf, CF1sf, Vicf y Visf) por triplicado con la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = [(M_i - M_f)/(M_i)] \times 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

donde M_i es la masa inicial de la muestra y M_f la masa seca de la muestra.

3.4.11. Solubilidad (S)

La solubilidad de las películas de mucílago en agua proporcionó información sobre el comportamiento del material en un entorno acuoso y fue una medida para determinar la resistencia al agua. Este factor fue importante, ya que evaluó la biodegradabilidad de las películas implementando como material de envase o empaque, la solubilidad de la película se definió por el contenido de materia seca solubilizada después de 24 h de inmersión en agua. El procedimiento constó en secar las películas

en una estufa a 105 °C hasta el peso constante para obtener materia seca inicial de las películas. Después, la muestra fue inmersa en 50 mL de agua Mili-Q y suavemente agitado (20 °C por 24 h) en una incubadora. Las películas en agua se inspeccionaron cada hora para determinar el tiempo transcurrido para obtener la solubilidad completa. Por lo que, al término de las 24 h, las películas no solubilizadas se sacaron del agua y estas fueron secadas en un horno de secado (105 °C, 24 h) para determinar el peso de la materia seca que no se solubilizó en agua con la siguiente ecuación:

$$\text{Solubilidad (\%)} = [(M_i - M_f)/(M_i)] \times 100 \quad \text{Ec. (4)}$$

donde M_i es la masa inicial de la muestra y M_f la masa seca de la muestra (Casariego *et al.*, 2009).

3.4.12. Análisis termogravimétrico (TGA)

Los análisis termogravimétricos (TGA) se completaron en un equipo Shimadzu TGA-50 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). Las películas con los mucílagos se colocaron en el sistema de balance y fueron calentadas de 20 a 500 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C min⁻¹ bajo una atmósfera de nitrógeno.

3.4.13. Fluorescencia de Rayos X

Los perfiles de difracción X fueron colectados en un difractómetro JEOL, JDX 8P, usando radiación Cuk y operado a un voltaje de 30kV y 20 mA respectivamente. Las intensidades de difracción fueron analizadas por triplicado en las películas de los mucílagos (Ctrl, CF1cf, CF1sf, Vicf y Visf) en 2 y 60° (rango de ángulo 2θ).

3.4.14. Análisis de ángulos de contacto (AC)

El ángulo de contacto (θ) de la superficie de las películas con mucílagos se determinaron en un medidor de ángulo de contacto frontal (OCA 20, Dataphysics, Alemania) utilizando el método de gota sésil (Newman y Kwok, 1999). Se colocó una gota de 2 µL en la superficie horizontal con una jeringa de 500 µL (Hamilton, Suiza) con una aguja de (0.75 mm de diámetro). Las mediciones se realizaron a los 0, 15 y 30 s con diez réplicas de mediciones de ángulo de contacto a 20.5 ± 0.3 °C.

3.4.15. Densidad (D)

La densidad de masa volumétrica de una sustancia está representada por unidad de volumen y el símbolo más utilizado es ρ . Antes de realizar las mediciones de grosor con un micrómetro (marca y modelo) y densidad, las películas se despegaron y acondicionaron en un desecador en condiciones de almacenamiento de temperatura y humedad controladas de 23 ± 2 °C y 50 ± 2 % de humedad relativa (HR), durante al menos 72 h antes de la prueba. La HR se controló a ese nivel utilizando una solución saturada de nitrato de calcio. Justo antes de la prueba, el espesor de la película se midió utilizando un micrómetro Modelo m120 (de Adamel L. homargy, Roissy en Brie, Francia) al 0.0001 mm más cercano. Para cada tipo de película de mucílagos, el espesor se calculó como el promedio de cinco mediciones, tomadas en diferentes ubicaciones en cada muestra de película, generalmente una en el centro y cuatro del perímetro (ASTM, 2000; Salgado *et al.*, 2010 y Ramos *et al.*, 2013). La densidad de la película se calculó directamente a partir del peso y las dimensiones de la película según la ecuación:

$$\rho_s = [(m)/(A \times \delta)] \times 100 \quad \text{Ec. (5)}$$

donde A es el área de la película de mucílago (cm²), δ la espesura (cm), m la masa seca (g) y ρ_s densidad de materia seca (g cm⁻³).

3.4.16. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología superficial de las películas con mucílagos estudiadas se examinó utilizando un microscopio electrónico de barrido (Nova NanoSEM 200, Países Bajos) con un voltaje de aceleración de 10 a 15 kV. Los análisis de espectroscopia de dispersión de energía se realizaron en un sistema integrado EDS-BSED (EDAX). Antes del análisis, todas las muestras se montaron en trozos de aluminio con cinta adhesiva de carbón y se recubrieron por pulverización con oro (grosor de aproximadamente 10 nm).

3.4.17. Análisis estadístico

Se utilizó el Programa IBM SPSS Statistics para realizar los análisis de varianza (ANOVA). Los valores medios se separaron por la prueba de rango múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$). Los gráficos se elaboraron utilizando los programas Prisma 7.0 y Microsoft Office Excel 2010.

3.5. Resultados y Discusión

3.5.1. Apariencia de las películas de mucílago de nopal

Las películas de mucílago de nopal mostraron similitud, sin embargo, la apariencia física antes de su secado fue diferente en relación a la consistencia. La variación se debe a que el material Vi tiene menor viscosidad que CF1. Distintos autores reportan que el aspecto total de los polímeros dependen de la especie y la madurez de los cladodios para obtener una completa transparencia. La apariencia del mucílago extraído de distintas plantas e implementado en películas o recubrimientos ha sido reportados por Jouki *et al.* (2013), Petera *et al.* (2015) y Gheribi *et al.* (2018).

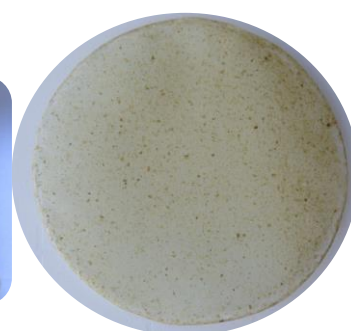
Control (Ctrl)

(2 % pectina + 0.5 % glicerol)



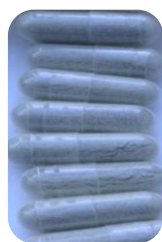
Vi sin fibra (Visf)

(2 % pectina + 2.5 % mucílago + 0.5 % glicerol)



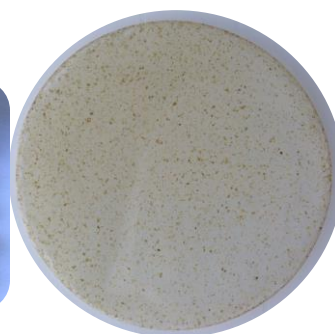
Vi con fibra (Vicf)

(2 % pectina + 2.5 % mucílago + 0.5 % glicerol)



CF1 sin fibra (CF1sf)

(2 % pectina + 2.5 % mucílago + 0.5 % glicerol)



CF1 con fibra (CF1cf)

(2 % pectina + 2.5 % mucílago + 0.5 % glicerol)

Figura 3.1. Películas a base de mucílago de nopal, pectina y glicerol.

3.5.2. Propiedades físicas de las películas con mucílago

La evaluación de PVA de las películas sirve para comprender la composición de las películas con mucílago, la relación de aditivos y el plastificante. Además el entrecruzamiento de los materiales influyen en la solubilidad y difusión de las moléculas de vapor de agua en la matriz de las películas. No existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para el análisis de permeabilidad CF1sf ($5.31 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$), Visf ($6.12 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) y Vicf ($6 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$). Ctrl fue la más permeable con un valor de $6.56 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ (Cuadro 3.1.) Lo anterior implica un mayor grado de reacción con la cadena polimérica debido a su habilidad de reducir enlaces de hidrógeno internos, reduciéndose así las fuerzas intermoleculares e incrementando la movilidad de las cadenas del mucílago y glicerol, principalmente. Esto influye en la modificación estructural de la red polimérica permitiendo el libre paso de agua generando con ello el fenómeno de adsorción. Nuestros valores son similares a los presentados para otro tipo de películas elaboradas con productos fenólicos residuales presentes en las cactáceas y demostrados por los autores Kwaldia, (2013); Zhang *et al.*, (2016) y Gheribi *et al.*, (2018) con 22.14 a 63.81 ($\text{g mm} / \text{m}^2 \text{ dkPa}$). La permeabilidad obtenida por Beigomi *et al.*, (2018) fue de 1.31 a 1.90 $\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, valores más altos en comparación con los nuestros, ya que al aumentar la concentración del glicerol se aumenta PVA. Otro caso, es el de Sadeghi *et al.*, (2018) que obtuvieron un valor de $9.59 \text{ g/Pa}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ m}^{-1} \times 10^{-11}$, dicho valor es muy bajo en comparación a nuestro trabajo. Las diferencias se deben a la incorporación de aditivos en las películas con mucílago y las concentraciones utilizadas para su caracterización fisicoquímica. La PVA de las películas y recubrimientos debe ser lo más baja posible según Sharma y Singh, (2016). Sin embargo, las proteínas y los polisacáridos generalmente poseen mayor afinidad con el agua, generando una PVA más alta que los polímeros sintéticos. En películas que contienen estructuras hidrófilas como los polisacáridos y proteínas, el permeante actúa con el polímero causando plastificación o hinchamiento, y la PVA depende más de la presión a la que se someten los materiales (Oliveira *et al.*, 2019).

Los resultados del contenido de humedad se muestran en la Cuadro 3.1. Estos valores fueron estadísticamente diferentes, aún que tuvieron las mismas condiciones de la formulación de las películas, así como las concentraciones de los polímeros, lo que permitió tener homogeneidad entre sí. Los mucílago absorbieron de 9.29 – 13.18 % de humedad, sin embargo, Zhang *et al.*, (2018) mencionan que la humedad produce un efecto significativo en las propiedades mecánicas y ópticas de las películas porque el agua se convierte en un plastificante eficiente en contacto con aditivos y esto podría afectar el índice de refracción. Otra investigación realizada por Beigomi, Mohsenzadeh y Salari, (2017) con películas de mucílago obtenidos de las semillas de *Dracocephalum moldavica*

usando glicerol (10 – 40 % p/p) encontraron un contenido de humedad de 16.40 a 27.06 %. Evidentemente resultados elevados en comparación a nuestro estudio. Si las películas se forman únicamente a partir de ingredientes poliméricos tienden a ser frágiles y quebradizos, especialmente bajo condiciones de baja humedad. Es por ello la importancia de la adición de plastificantes a la matriz polimérica. No solo los polioles de bajo peso molecular como el glicerol, sorbitol o xilitol sirven como plastificantes, también el agua residual actúa como tal para películas hidrofílicas. Se recomienda que las películas contengan del 5 al 10% de humedad debido a que mayores humedades aumentan la permeabilidad al vapor de agua.

Los valores de ángulo de contacto se muestran en la Cuadro 3.1. El angulo de contacto del Ctrl fue 87.22°, siendo la más humectante en comparación con las películas Visf con 37.12°, Vicf (39.88°), CF1sf (37.80°) y CF1cf con 39.32°, específicamente. El glicerol (1.5 % p/v) adicionado en la película Ctrl junto con la pectina (2 % p/v) en las matrices fueron simultáneamente hidrófilos. El glicerol reduce la hidrofobia de películas en presencia de un polisacárido. En este caso, las concentraciones de formulación de las películas fueron clave para estimular el incremento de solubilidad en el agua. El grado de metoxilación influye en las propiedades de la pectina, en particular la solubilidad y las condiciones de gelatinización. El fenómeno hidrofílico fue ligeramente observado en las películas con fibras y sin fibras debido a la interacción de moléculas polares que componen a estos materiales que interactúan con el agua como lo son el -OH, CH y CH₂. Otro efecto que interfiere en los mucílagos fibrosos es la estructura que los componen, ya que se derivan de ácidos de osas (glúcidos complejos) que los hacen ácidos más absorbentes en un medio acuoso. Sin embargo, nuestros resultados son más bajos en comparación con los de Mujtaba *et al.*, (2019), ya que ellos obtuvieron valores de 47, 71 y 101° con la adición de nanofibras de celulosa en distintas concentraciones. Por otro lado, Luo *et al.*, (2019) reportaron humectabilidad de 90.43 a 117.26° mediante la incorporación de aceites esenciales en la matriz mucilaginoso de chia en concentraciones altas. Una investigación realizada por Jouki *et al.*, (2013) reportaron valores de 48.53 y 76.65° en películas formuladas de mucílagos con la incorporación de glicerol en un 25-50 % p/p. Los mucílagos adicionados en las soluciones formadoras de películas disminuyeron significativamente la humectabilidad de los materiales. Lo anterior se debe a la composición de estos polisacáridos que se denominan hidrófobos, entre ellos se encuentra el calcio, ya que es muy poco soluble en agua y tiene una solubilidad considerable en agua que contenga dióxido de carbono disuelto, ya que en estas se forma el bicarbonato al disolverse en forma cristalina.

Los valores obtenidos para la densidad de las películas Visf (1.64 g/cm³) y CF1cf (1.63 g/cm³) fueron iguales y las más densas en comparación con Vicf (0.98 g/cm³) y CF1cf (1.13 g/cm³). Estas permitieron tener más área de amplitud por el tamaño de partícula (6 mm) a diferencia de las que

estaban en ausencia de fibra (1.75 mm), siendo más densas. Otro factor que influyó fue la presencia del contenido de contaminantes, ya sea lípidos y/o minerales. Los materiales fibrosos pudieron formar por la introducción de fibras provenientes de lignocelulosa extraída en el mucílago almacenado en el nopal como fuente de almacenamiento para hacer fuerte, rígida y dúctil a las películas, lo que generaría una mayor resistencia y elasticidad. De acuerdo a lo reportado, Ramos *et al.*, (2013) reportan densidades de películas con proteína en adición con glicerol a $1.26 - 1.38 \text{ g cm}^{-3}$, cuyos valores coinciden con los nuestros. Abdorreza *et al.*, (2017) encontraron densidades de $1.18 - 1.29 \text{ g cm}^{-3}$ en películas formuladas con gomas extraídas de semillas de *Alyssum homolocarpum*. Las diferencias obtenidas pudieron deberse a la estructura molecular de los mucílagos y el contenido de unidades fibrosas.

Cuadro 3.1. Contenido de humedad, Espesuras, PVA, AC y Densidad de las películas formuladas con mucílagos hidropónicos con 45 días de madurez.

TRATAMIENTO	CH (%)	ESPESOR (mm)	PVA ($\times 10^{-9} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)	AC (°)	DENSIDAD (g/cm^3)
Ctrl	8.85 ± 0.02^d	0.08 ± 0.00^d	6.56 ± 0.75^a	87.22	0.89 ± 1.05^c
				$\pm 4.75^a$	
Visf	13.18 ± 0.00^a	0.11 ± 0.05^c	6.12 ± 0.23^{ab}	37.12	1.64 ± 0.06^a
				$\pm 4.37^b$	
Vicf	9.29 ± 0.02^c	0.08 ± 0.00^d	6.00 ± 1.36^{ab}	39.88	0.98 ± 0.89^{bc}
				$\pm 4.38^b$	
CF1sf	12.41 ± 0.05^{bc}	0.17 ± 0.00^b	5.31 ± 0.54^{ab}	37.80	1.63 ± 1.22^a
				$\pm 5.29^b$	
CF1cf	12.44 ± 0.00^b	0.22 ± 0.02^a	6.18 ± 0.22^b	39.32	1.13 ± 1.77^b
				$\pm 5.91^b$	

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares ($n = 3$) en fila.

3.5.3. Resistencia de tracción (RT) y rotura de alargamiento (EB)

Las propiedades mecánicas de las películas juegan un papel fundamental en el envasado de los alimentos, siendo de gran interés, ya que generan una mejor conservación de los productos durante el almacenamiento y comercialización. Para este propósito, se requieren tanto resistencia como flexibilidad. Los resultados del análisis de varianza ($p \leq 0.05$) fueron estadísticamente diferentes en las pruebas: módulo de Young (YM), Resistencia a la tracción (TS) y Rotura de alargamiento (EB). La Ctrl obtuvo en todos los análisis realizados, los máximos valores; 6.42 MPa en el YM, 22.50 MPa en la RT y 8.98 % en la RA. La Visf tuvo el mayor potencial en las pruebas seguido del control. En el YM 8.28 MPa, 15.60 MPa en la TS y 2.28 % en EB. Este comportamiento se le atribuye a que la pectina presentó mayor TS debido a la combinación de polisacáridos que interactúan con grupos funcionales que son capaces de formar enlaces intermoleculares (-OH; -COOH) que dependen mucho de su naturaleza. Gheribi *et al.* (2018) formularon películas de mucílago con polioles, encontraron una RT >1 MPa y RA mayor a 60 %. Espino Díaz *et al.* (2010) usaron mucílago con el mismo plastificante y obtuvieron (0.95 MPa y 14.99 %). Estas diferencias se deben a la composición química y pesos moleculares de los mucílagos y concentración de los plastificantes incorporados en las soluciones que afectan las propiedades mecánicas, así como las especies y madurez de los cladodios a los cuales se le extrajeron los polímeros. Por otra parte, una gran influencia tuvo el método de extracción para la recuperación del mucílago. La película Visf tuvo el mayor potencial seguido del Ctrl en el caso de YM con 8.81 MPa, 16.38 MPa en TS 2.30 – 2.09 % en EB. Esta condición se debió a la alta miscibilidad que había entre la pectina y glicerol que ayudaron a aumentar su flexibilidad y disminuir la viscosidad del material fibroso en la formación de películas (Mujtaba *et al.*, 2019; Dick *et al.*, 2015). Vicf, CF1cf y CF1sf mostraron un mismo comportamiento en el YM (5.49, 5.90 y 6.99 MPa) y en EB con valores <10 %. Lo anterior significa que la adición de pectina y glicerol generó una estabilidad sin la reducción de EB. Esta propiedad se atribuye a la naturaleza química de las especies Vi y CF1 de nopal, ya que presentan polimorfismo y en ocasiones la expresión morfológica resulta ser similar aún siendo de distintas especies. En una serie de estudios, se ha demostrado que la eliminación de restos proteicos produce un aumento significativo de la tensión superficial y, por lo tanto, una menor capacidad emulsionante en comparación con las encías no tensioactivas (Soukoulis, Gaiani y Hoffman, 2018).

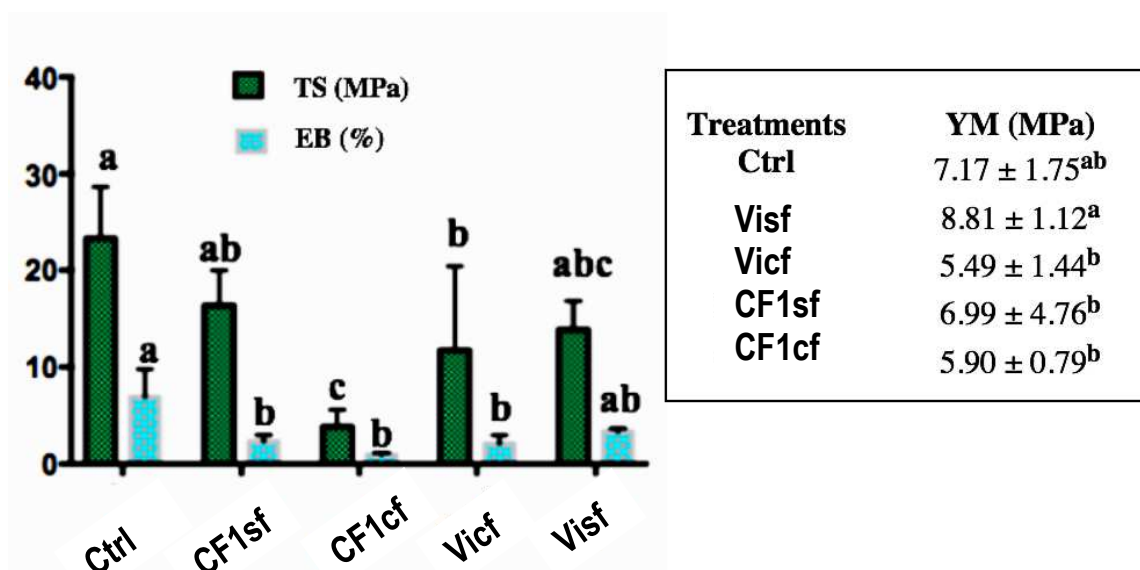


Figura 3.2. Propiedades mecánicas de las películas con mucílagos hidropónicos de *Opuntia* spp.

3.5.4. FTIR

En el rango de 3000 cm^{-1} a 4500 cm^{-1} (1) se encontraron los grupos O-H de pectina de acuerdo a lo reportado por los autores Kumari *et al.*, (2016). En el patrón (2-3) se mostró a 2900 cm^{-1} y 2700 cm^{-1} la banda con características relacionadas con el estiramiento C-H de los grupos piranosa de los mucílagos en las películas (Contreras *et al.*, 2016). La banda de transmitancia a 2350 cm^{-1} (4) se debe a la unión del enlace C-C de la pectina y mucílagos, ya que son comunes ramificaciones de compuestos orgánicos. En la línea (5) de 1830 cm^{-1} se registró la aparición de acroleína del glicerol en las películas (Oliveira Maia *et al.*, 2018). La presencia del enlace C=O se obtuvo en la banda 1610 cm^{-1} (6). En la marca (7) a 1428 cm^{-1} se encontró alcanos, alcoholes, fenoles, entre otros, de la pectina y los mucílagos. El ácido carboxilo de la pectina fue detectado en la banda 1290 cm^{-1} (8). El enlace C-H permaneció en la marca (9) de la pectina en conjunto con el glicerol y finalmente la configuración alfa de azúcar en los mucílagos (10) fue localizada en la longitud de onda de 724 cm^{-1} que coincide con lo reportado por Cai *et al.*, (2008). La disminución en el pico a 1080 cm^{-1} en geles de mucílagos provenientes de *Opuntia* spp. se presentó debido a la interacción con el agua y el almidón de donde fue extraído el polisacárido dando como resultado rupturas de los enlaces de hidrógeno estudiada por Rivera-Corona *et al.*, (2014). El comportamiento de los espectros FT-IR coinciden con los de López-García *et al.*, (2017) en la absorción de amida que corresponde al estiramiento en el pico de 1643 cm^{-1} y localizado el C=O por la flexión de las moléculas de agua contenidas en las películas. Sadeghi, Emam y Askari, (2018) reportaron la expresión de los espectros FT-IR en películas sintetizadas con

mucílagos extraídas de Balangu y encontraron algunos grupos como O-H, C-H, C-O, O-C y COO- por la adición del glicerol.

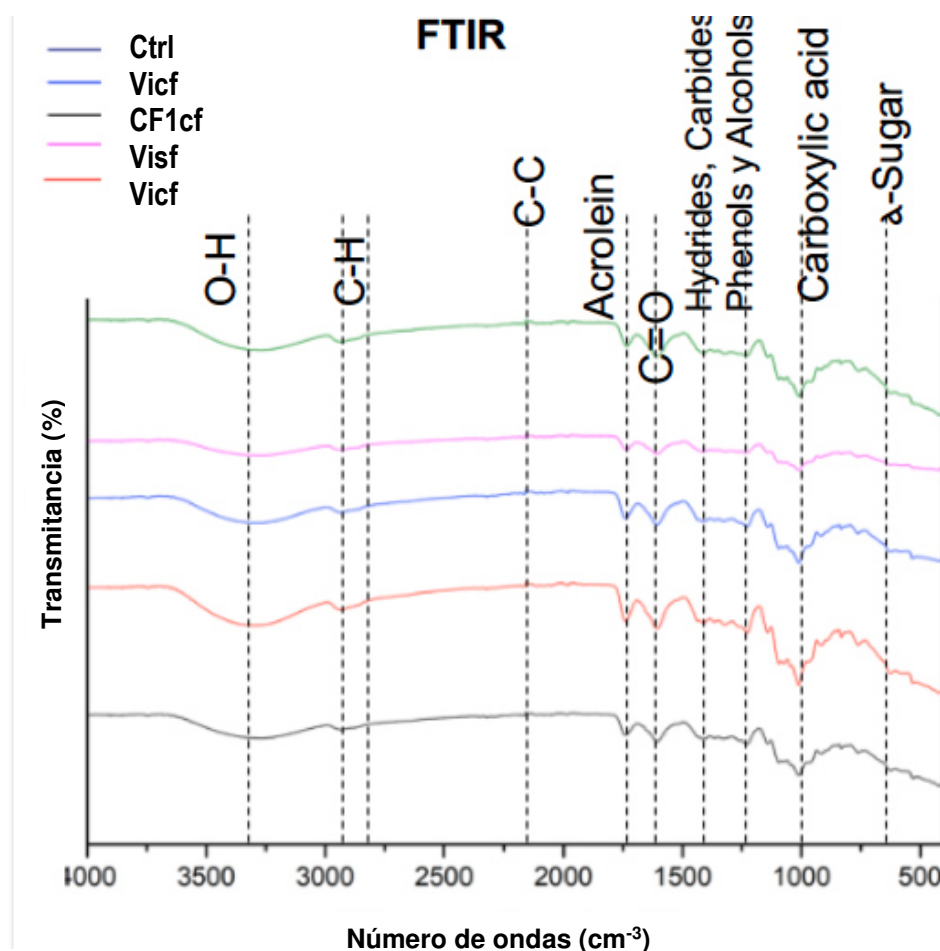


Figura 3.3. Espectro FTIR de películas de mucílagos de *Opuntia* spp. y control.






3.5.5. Color y opacidad

Los resultados del análisis del color mostraron diferencias significativas entre las películas de mucílagos con y sin fibra evaluadas. La luminosidad (L^*) más alta la presentó Ctrl (99.19) arrojando un color amarillo oscuro, debido a las reacciones de pardeamiento enzimático. Luo *et al.*, (2019) determinaron la luminosidad de las películas con mucílagos extraídos de chia (*Salvia hispanica* L.) con aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y oscilaron de 86.72 a 93.05. Nuestros valores estuvieron dentro del rango estipulado por los anteriores autores. De acuerdo a lo anterior, fue notoria la actividad química de los polímeros de forma conjunto que modificaron la pigmentación en la fabricación de las películas junto con los mucílagos. Las coordenadas rojo/verde (a^*) arrojaron un color amarillo crudo legible en el Ctrl, así como en Visf (3.29-3.63); en el perfil amarillo/azul (b^*) son mayores en Visf y los demás fueron iguales. Estos rangos del perfil CIELAB se deben a la

incorporación de aditivos (pectina de alto metoxilo extraída de la manzana y el glicerol), lo que generó una decoloración más visible a los valores de los polvos de los mucílagos en su estado natural. La pectina en polvo obtenida es acrómatica a 400 – 700 nm y los valores oscilan en L* de 90.2 – 91.3, a* de 3.7 – 1.9 y b* de 2.6 – 14.90. De acuerdo con lo anterior, fue notoria la actividad química de los polímeros de forma conjunto que modificaron la pigmentación en la fabricación de las películas junto con los mucílagos. Gheribi *et al.*, (2018) reportaron en la luminosidad 88 y 90, todas las películas con mucílagos se encuentran dentro del rango, sin embargo, control es mayor a lo reportado, ya que estos autores trabajaron con plastificantes polietilenglicol, glicerol y sorbitol. La apariencia granular de los mucílagos extraídos difiere en el tamaño de partícula de forma insoluble y general un color más oscuro por los reportados.

El análisis de varianza ($p \leq 0.05$) para la opacidad de las películas fue estadísticamente diferente para los 6 tratamientos evaluados. Las películas con mucílagos CF1 (6.21 %) y Visf (6.39 %) fueron las que presentaron mayor opacidad. Lo que significó que la adición de un material fibroso puede disminuir la opacidad de las películas, específicamente con mucílagos. Da Silva *et al.*, (2018) mencionan que las películas opacas deben exhibir valores similares de las coordenadas de color (L*, a* y b*) independientemente del sustrato donde se depositan. En contraste, las coordenadas de color de las películas transparentes tienen la contribución de la luz reflejada. Abirami *et al.*, (2018) encontraron que los polímeros extraídos de *Acanthophora spicifera* con la adición del glicerol tenían valores de 0.45 y 1.46 (Abs₆₀₀/mm). Por lo tanto, la concentración de polisacáridos aumenta la opacidad. Además, la adición del glicerol disminuye la turbidez de las películas.

Cuadro 3.2. Color y Opacidad de las películas formuladas con mucílagos hidropónicos con 45 días de madurez.

PELÍCULAS	L*	a*	b*	OPACIDAD (%)
Ctrl	 99.19 ± 0.20 ^a	15.50 ± 0.60 ^a	13.85 ± 1.35 ^b	4.38 ± 0.09 ^d
Visf	 69.22 ± 0.64 ^e	3.29 ± 0.42 ^b	28.43 ± 1.06 ^a	6.39 ± 0.45 ^a
Vicf	 92.60 ± 1.22 ^b	0.07 ± 0.02 ^c	15.91 ± 2.82 ^b	3.23 ± 0.19 ^e
CF1sf	 89.90 ± 0.14 ^d	0.95 ± 0.11 ^c	18.08 ± 1.12 ^b	6.21 ± 0.20 ^{ab}
CF1cf	 88.43 ± 1.93 ^c	0.04 ± 0.03 ^c	13.11 ± 1.57 ^b	3.92 ± 0.09 ^c

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los cultivares (n = 3) en fila.

3.5.6. Solubilidad

Los valores de solubilidad (Cuadro 3.3), muestran que todas las películas con mucílago extraídos de los nopales son totalmente solubles (100 %), así como el control. Araújo *et al*, (2018) reportaron valores de solubilidad del mucílago okra (*Abelmoschus esculentus*) y películas de almidón de maíz (*Zea mays*) de 11.53 – 89.82 % (nuestros valores fueron más altos). Este parámetro representa la biodegradabilidad de las películas en un medio acuoso con el objetivo de desintegrarse en el medio ambiente y que no lo contamine, aunque directamente dependerá de la aplicación y propósito de los materiales. Los productos con alta humedad necesitan de un recubrimiento y/o película de baja solubilidad. Por otro lado, Beigomi, Mohsenzadeh y Salari, (2017) obtuvieron de 46.40 a 54.63 % de solubilidad de las películas con mucílago extraídos de *Dracocephalum moldavica*. Oliveira *et al*. (2018) desarrollaron películas de mucílago de *Pereskia aculeata* Miller con glicerol y encontraron valores de solubilidad de estas en un rango de 0.078 a 0.125 % (nuestros valores son más altos a los reportes anteriores). Las diferencias observadas se deben a la manipulación de homogeneización de los polímeros utilizados, ya que el mucílago puede presentarse de forma soluble e insoluble en un medio acuoso. La incorporación de pectina influyó de forma significativa en la solubilización completa de las películas debido al contenido de calcio y la composición de ácidos orgánicos que pueden adaptarse a las condiciones de formulación de los materiales, así como la conservación del pH del agua para mezclar los reactivos.

Cuadro 3.3. Estados de solubilidad de películas formuladas con mucílago de *Opuntia* spp. y Control.

PELÍCULA	DESPUÉS DE 1 HORA	DESPUÉS DE 24 HORAS	SOLUBILIDAD (%)
Ctrl	Totalmente soluble	Totalmente soluble	100 %
CF1cf	Soluble	Totalmente soluble	100 %
CF1sf	Totalmente soluble	Totalmente soluble	100 %
Vicf	Soluble	Totalmente soluble	100 %
Visf	Totalmente soluble	Totalmente soluble	100 %

3.5.7. TGA

Para evaluar la estabilidad térmica de las películas con mucílago en conjunto con la pectina y el glicerol, dos fenómenos ocurrieron en la degradación térmica: el desprendimiento de la cadena producido por la eliminación de las moléculas de agua (deshidratación), seguido por la escisión y descomposición a través del incremento de la temperatura a la que fueron sometidos los materiales

(Figura 3.4). Se detectaron 3 cambios de masa para el Ctrl y Visf durante la descomposición del material. En el Ctrl, el primer valor manifestado fue de 19.53 % a 89.7 °C, posterior a 17.55 % a 206 °C para el segundo y 36.25 % a 236 °C para el tercero. Estas variaciones fueron corroboradas por la dTGA (Figura 3.5). La primera descomposición para este tratamiento se debe al arrastre de solvente presentes en las materias primas, siendo el glicerol y la pectina. Se detectó la transformación de degradación amorfa de la película Ctrl a través de una onda isotérmica en la segunda descomposición. Estas alteraciones se deben a la aparición de grupos hidroxilo produciendo pérdida de debilidad e intensidad en la estabilidad térmica (Da Silva *et al.*, 2018; Texeira *et al.*, 2019). Los autores Sucheta *et al.* (2019) mencionan que cuando existe una disminución en la viscosidad de las películas se genera una desestabilidad térmica debido a que tienen una estructura compacta (valores reportados de 30 – 150 °C y 250 °C). Los termogramas del análisis TGA para Visf se observaron en degradaciones de masas en 116°, 198° y 231° con un promedio de 16.53 % respectivamente. Esta reacción se debe a la baja viscosidad que el mucílago contenía debido a que el material no tenía una estructura polimérica tan compacta en comparación con las de los demás mucílagos. En Vicf se presenciaron dos cambios de masa (8.08 y 45.16 %) en las temperaturas 95.5 y 248 °C. El efecto químico observado en este tratamiento se le atribuyó a la degradación de las moléculas hemicelulosa y lignina del mucílago fibroso (M. El Achaby *et al.*, 2018). En el caso de CF1cf y CF1sf presentaron similitud en las dos expresiones termogravimétricas. Las primeras deformaciones de masas se presentaron en 178 y 195 °C con 11.04 y 13.3 %. Las segundas pérdidas de masas oscilaron de 32.39 y 33.10 % en 228 y 250 °C. Estas interacciones pudieron deberse a la ruptura de enlaces hidrógeno y carbono intermoleculares en los grupos hidroxilo del mucílago, haciendo más débil al material (E.F. Hernández *et al.*, 2018; El-Jazairi e Illston, 1977). El residuo termogravimétrico final obtenido en los materiales analizados oscilaron de 16 a 29.5 %. El ctrl siendo el más bajo y los más altos CF1sf y Visf. Estos valores son similares a los reportados por M. El Achaby *et al.* (2018); Kargarzadeh *et al.* (2012); Mujtaba *et al.* (2019) y Sucheta *et al.* (2019).

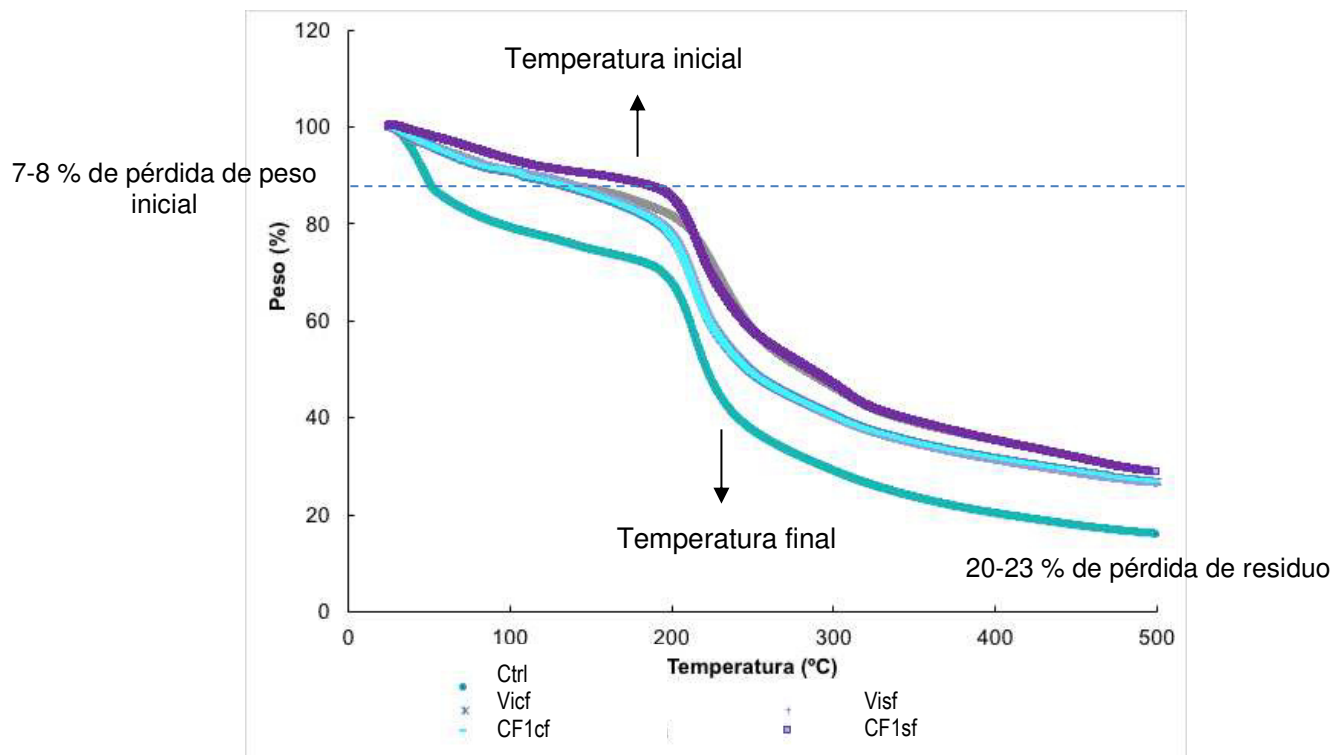


Figura 3.4. Termogramas TGA de las películas con mucílagos de *Opuntia* spp.

Cuadro 3.4. Registros de temperatura onset y máxima de las películas con mucílagos en las derivadas de los termogramas del TGA.

PELÍCULA	TEMPERATURA ONSET (°C)	TEMPERATURA MÁXIMA (°C)
Ctrl	80.3	217
Vicf	95.5	213
Visf	83.2	214
CF1cf	89.5	214
CF1sf	90.9	216

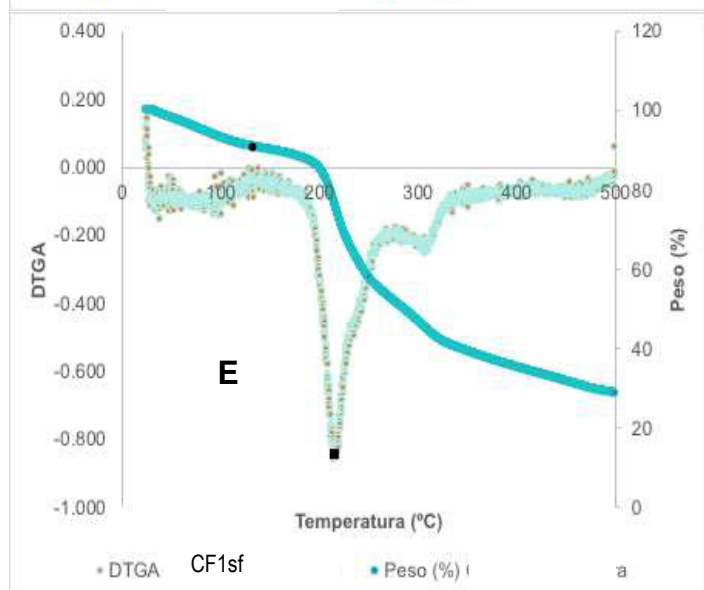
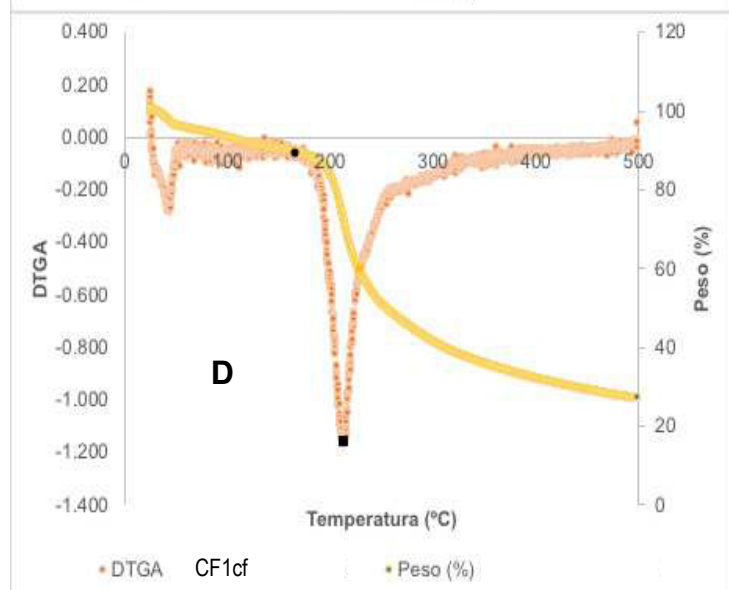
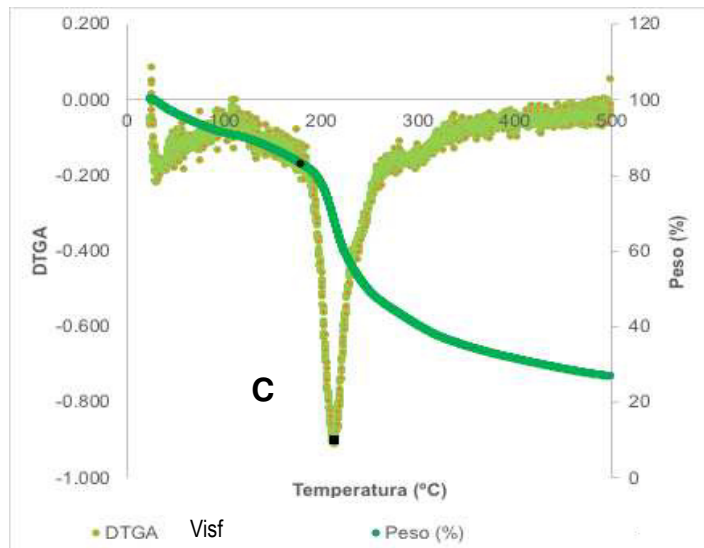
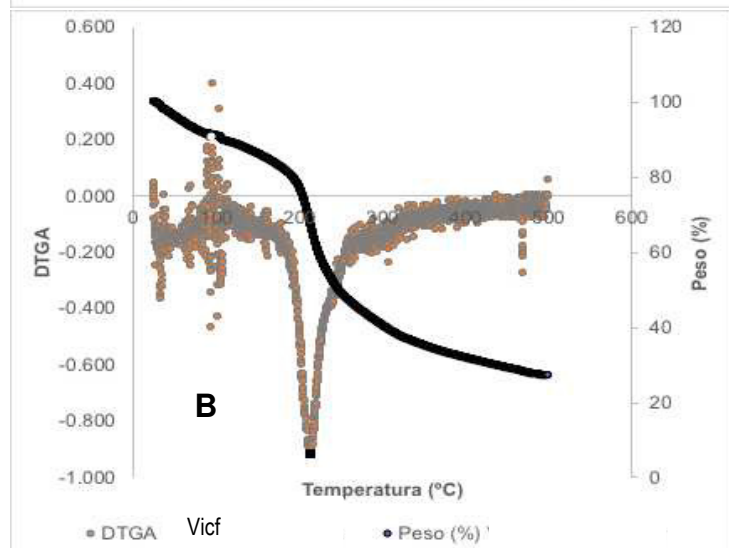
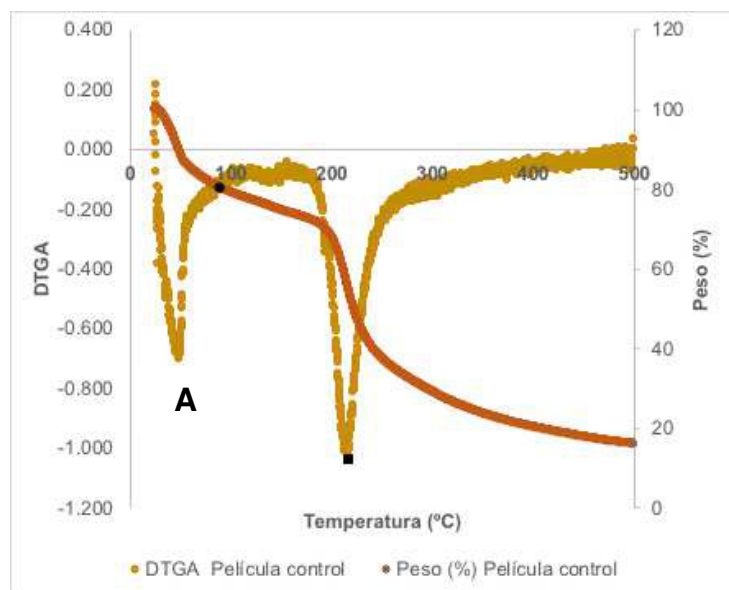


Figura 3.5. Termogramas de TGA de películas de mucílagos de nopal con la respectiva derivada (dTGA). A) Película Ctrl, B) Vicf, C) Visf, D) CF1cf y E) CF1sf. Los puntos negros marcados en cada gráfico representan la Temperatura onset y los cuadros negros en el pico de la derivada de TGA representan la Temperatura máxima a la cual fueron degradados los materiales.

3.5.8. Rayos X

En la Figura 3.6 se muestran los comportamientos de las películas con mucílagos. Vicf y Visf mostraron la mayor intensidad de los picos (2-4). Esta variación se debe a la presencia de compuestos cristalinos. La ausencia de fibras generó la mayor concentración de hidruro de calcio y otros compuestos lignocelulísicos característicos de las fibras del nopal. Cabe destacar que en el valor 37.90° para las películas con mucílagos, de acuerdo a lo reportado por Contreras *et al.* (2011-2016) por la presencia de CaH_2 . El comportamiento de la película CF1cf y CF1sf presentó una variación en la intensidad de los picos, ya que las puntuaciones areoladas permitieron dispersar la energía en forma cristalinizada en una región amorfa de las células mucilaginosas. En el caso de la película control, la diferencia presentada en los perfiles de intensidad simulados en la Figura 3.6. son diferentes por la variación de compuestos cristalinos y el nivel de la dispersión amorfa en el fondo de la celulosa (French, 2013).

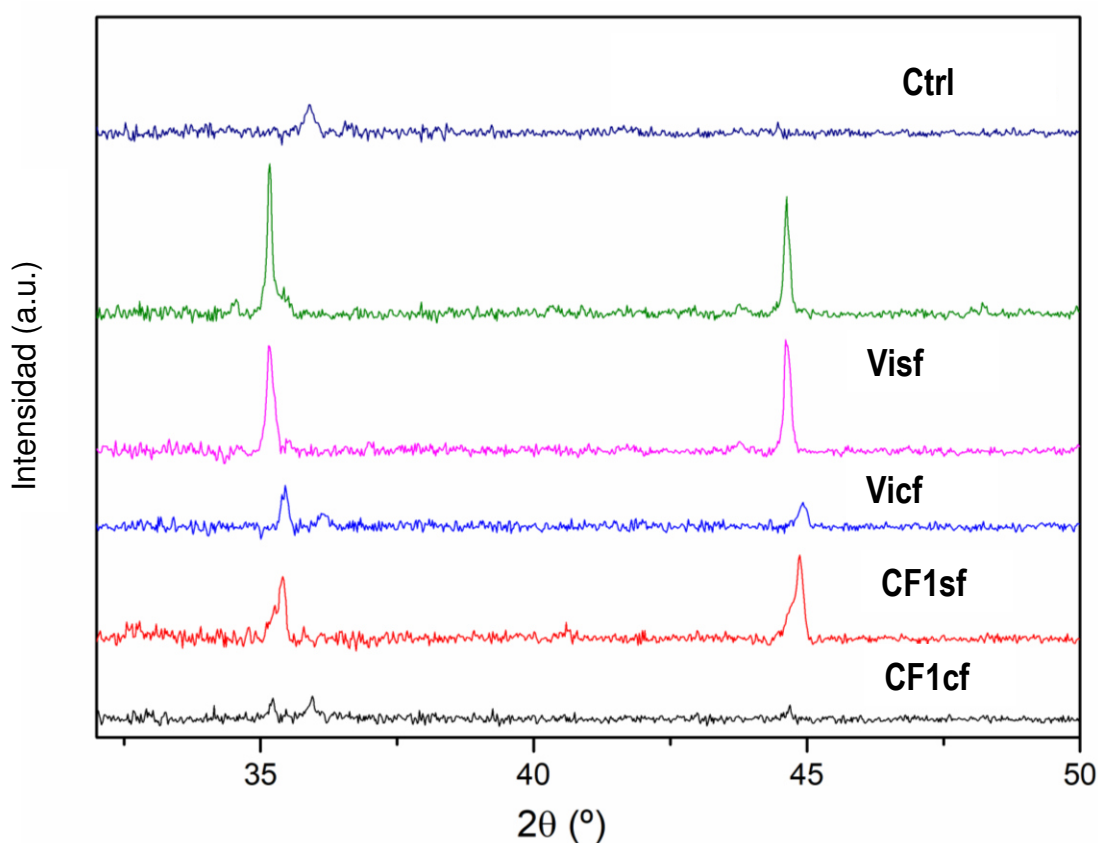


Figura 3.6. Patrones de difracción de películas de mucílagos de *Opuntia* spp. y Ctrl.

3.5.9. SEM

En la Figura 3.7 se muestran los comportamientos de la película de pectina con glicerol y mucílagos con y sin fibra, estos presentaron una forma esférica con superficie lisa, que se observó en las partículas de los polisacáridos. La difusión del tamaño las micropartículas se muestran en el fondo muy agrupadas, esta propiedad es característica de la pectina, sin embargo, la adición de glicerol generó la distribución de las partículas (Parameswaram *et al.*, 2018 y Zhou *et al.*, 2016).

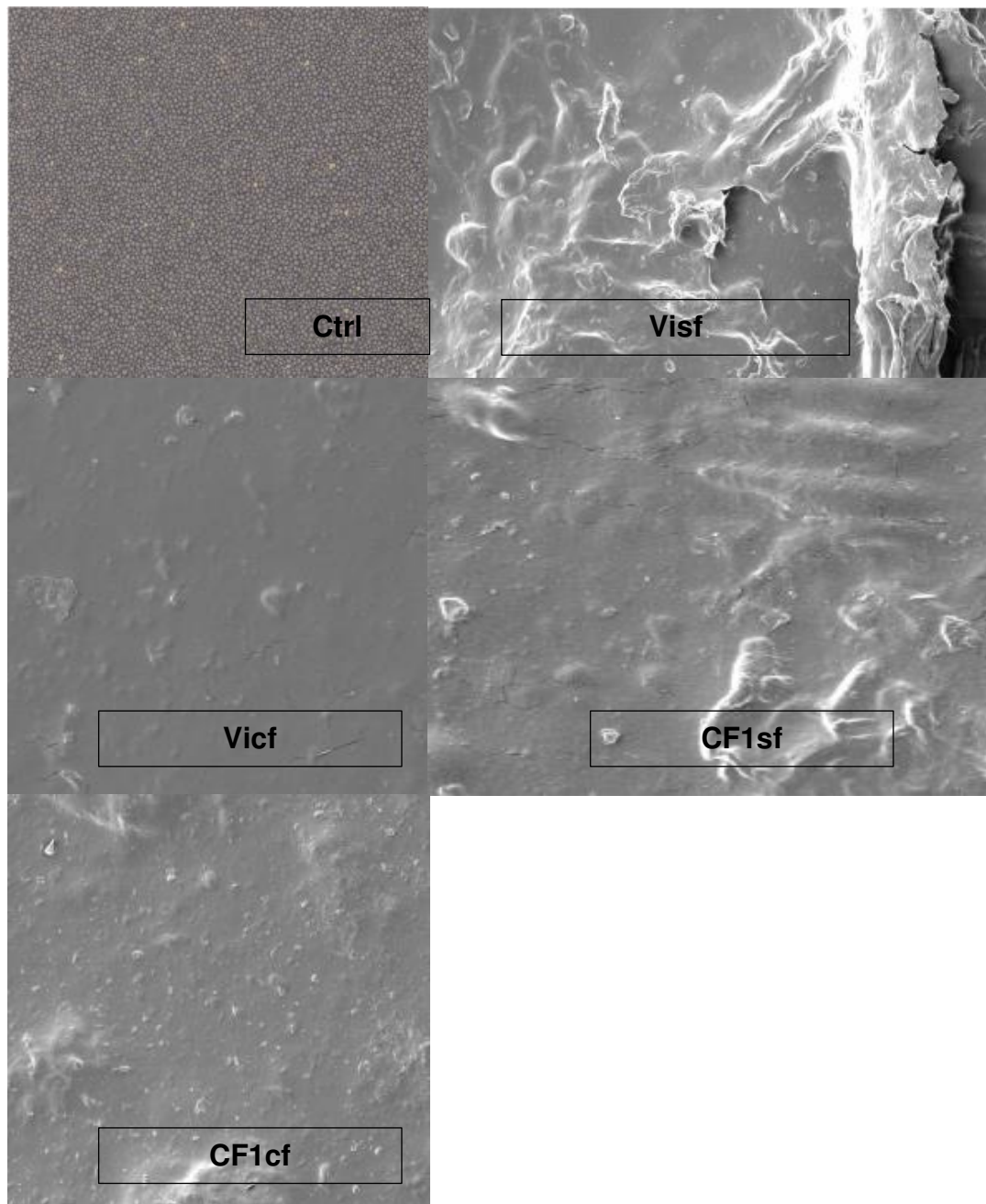


Figura 3.7. Imágenes SEM de películas de mucílagos de nopal y control.

3.6. Conclusiones

Las películas con mucílagos presentan propiedades que tienen potencial en el envasado de alimentos y la alta biodegradabilidad en un medio acuoso. Muestran estabilidad térmica aceptable y similar en los tratamientos evaluados, así como una resistencia mecánica y de barrera altamente fuertes. Tienen permeabilidad baja. La ausencia de fibras mostraron mejor comportamiento en comparación con la presencia de fibras, ya que estas permitieron identificar las propiedades de los materiales. Por ello, y debido a la abundancia de los mucílagos extraídos de *Opuntia* spp., y que son de bajo costo resultan una alternativa viable para la formulación de películas comestibles.

La caracterización mecánica del mucílago de nopal y las películas de control mostraron que su dureza y elasticidad es comparable a la de los desechos no alimentarios. Por esta razón, esta propiedad podría ser un recurso potencial de celulosa y lignina. La solubilidad demostró la biodegradabilidad de los materiales.

La propiedad del color y la opacidad estaban relacionadas con el contenido de clorofila de los cultivares de mucílago y el grado de modificación de la apariencia con aditivos plastificantes.

La humedad de las películas fue influenciada por la acumulación de agua en la formulación de mucílagos y plastificantes. Los valores de temperatura de transición vítrea (tga) de las películas comestibles de mucílagos se vieron significativamente afectados por la pectina y el glicerol para el estudio de la pérdida de peso. El espectro de películas de control y comestibles de mucílago, una amplia banda de absorbancia, firmó vibraciones asimétricas y mostró compuestos en diferentes áreas. La microestructura de las películas comestibles de control y mucílago fue evidenciada por SEM y la distribución de lignina y celulosa de las fibras.

Los ingredientes activos y funcionales se obtuvieron del nopal con propiedades fisicoquímicas y mecánicas aptas para agregarse en matrices de hidrocoloides, polioles, etc., y usarse en posibles aplicaciones alimentarias. Las películas biodegradables de mucílagos con adición de pectina y glicerol resultaron ser materiales semitransparentes y opacos que dependieron del tipo y del contenido del extracto mucilaginoso. Esto se debe a la presencia de fibras de los hidrocoloides, lo que aumenta la viscosidad y, por lo tanto su permeabilidad y lo hace más resistente a la exposición de calor.

3.7. Bibliografía

1. Abirami, R.G., Shanmugam, Munisamy, Seedeve, Palaniappan and Rajauria, Gaurav. (2018). Development of edible film from *Acanthophora spicifera*: Structural, rheological and functional properties. J. Food Bioscience. 23, 121-128.
2. Alfred D. French (2013). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. Original paper springer. 21; 885- 896.
3. ASTM Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials (2000). Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia.
4. Beigomi, Maryam & Mohsenzadeh, Mohammad & Salari, Amir. (2017). Characterization of a novel biodegradable edible film obtained from *Dracocephalum moldavica* seed mucilage. International Journal of Biological Macromolecules. 108, 874-883.
5. C.I. da Silva Oliveira, D. Martínez- Martínez, A. Al-Rjoub, L. Rebouta, R. Menezes (2018). Development of a statistical method to help evaluating the transparency/opacity of decorative thin films. J. Applied Surface Science. 438; 51-58.
6. C.I. da Silva Oliveira, D. Martínez- Martínez, A. Al-Rjoub, L. Rebouta, R. Menezes (2018). Development of a statistical method to help evaluating the transparency/opacity of decorative thin films. J. Applied Surface Science. 438; 51-58.
7. Danielle de OliveiraMaia, Alanna Martinna de SouzaChagas, Aruzza Mabel de Moraes Araújo, Antonio Vicente de Mendonça, Isabelle Mariane de Lima Ferreira, F.C.D. Lemos, Antonio S. Araujo, Valter José Fernandes, Amanda Duarte Gondim (2018). Catalytic pyrolysis of glycerol in the presence of Nickel (II) Schiff base complex supported in SBA-15: Kinetic and products (TG-FTIR and PY-CG/MS), Thermochimica Acta. 669160-168.
8. Dhanapal, A., Sasikala, P., Rajamani, L., Kavitha, V., Yazhinim, G., & Banu, M. S. (2012). Edible films from polysaccharides. Food Science and Quality Management, 3(0), 9e17
9. Dick, Melina & Dal Magro, Lucas & Rodrigues, Rafael & de Oliveira Rios, Alessandro & Flôres, Simone. (2018). Valorization of *Opuntia monacantha* (Willd.) Haw. cladodes to obtain a mucilage with hydrocolloid features: Physicochemical and functional performance. International Journal of Biological Macromolecules. 123. 900-909.
10. E.F. Hernández, H. Pfeiffer Perea, P.F. de J. Cano Barrita (2017). Influencia del mucílago de nopal y extracto de algas cafés en el grado de hidratación de pastas de cemento portland ordinario. Rev. Nexo. 30 (2) 73-83.
11. El-Jazairi B., Illston J.M. (1977). A simultaneous semi-isothermal method of thermogravimetry and derivative thermogravimetry, and its application to cement pastes. Cem. Concr. Res., 7, 247–258.
12. Espino Díaz, M., De Jesús OrnelasPaz, J., Martínez-Téllez, M. A., Santillán, C., Barbosa-Cánovas, G. V., Zamudio-Flores, P. B., y Olivas, G. I. (2010). Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). Journal of Food Science. 75; 347- 352
13. G. Parameswaram, P.S.N. Rao, A. Srivani, G. Nageswara Rao, N. Lingaiah (2018). Magnesia-ceria mixed oxide catalysts for the selective transesterification of glycerol to glycerol carbonate. 451; 135-142.
14. G. Vanitha Kumari, Nimrodh Ananth, Asha, T. Mathavan, M.A. Jothi Rajan (2016). Synthesis and characterization of Folic acid conjugated Silver/Gold Nanoparticles for Biomedical Applications. Journal of materials today. 3; 4215-4219.

15. Gheribi, Rim & Puchot, Laura & Verge, Pierre & Jaoued-Grayaa, Najeh & Mohamed, Mezni & Habibi, Youssef & Khwaldia, Khaoula. (2018). Development of Plasticized Edible Films from *Opuntia ficus-indica* Mucilage: A Comparative Study of Various Polyol Plasticizers. Carbohydrate Polymers. 190. 10.1016/j.carbpol.2018.02.085.
16. Guillard, V., Broyart, B., Bonazzi, C., Guilbert, S., & Gontard, N. (2003). Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: Experimental and mathematical study. Journal of Food Science. 68; 2267–2277.
17. H. Kargarzadeh, I. Ahmad, I. Abdullah, A. Dufresne, S.Y. Zainudin, R.M. Sheltami (2012). Effects of hydrolysis conditions on the morphology, crystallinity, and thermal stability of cellulose nanocrystals extracted from kenaf bast fibers, Cellulose 19, 855–866.
18. Joana T. Martins, Miguel A. Cerqueira, António Vicente (2012). Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. Food Hydrocolloids. 23;220-227.
19. João P. de Mesquita, Claudio L. Donnici and Fabiano V. Pereira (2010). Biobased Nanocomposites from Layer-by-Layer Assembly of Cellulose Nanowhiskers with Chitosan. Biomacromolecules, 11; 2912-2918.
20. Jose Luis Rivera-Corona, Francisco Rodríguez-González, Rodolfo Rendón-Villalobos, Edgar García-Hernández, Javier Solorza-Feria (2014). Thermal, structural and rheological properties of sorghum starch with cactus mucilage addition, LWT - Food Science and Technology, 59 (2), 806-812.
21. Jouki, Mohammad & Ali Mortazavi, Seyed & Tabatabaee, Farideh & Koocheki, Arash & Khazaei, Naimeh. (2014). Use of quince seed mucilage edible films containing natural preservatives to enhance physico-chemical quality of rainbow trout fillets during cold storage. Food Science and Human Wellness. 3. 10.1016/j.fshw.2014.05.002.
22. Khwaldia, K. (2013). Physical and mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose coated paper as affected by coating weight and coating composition. J. Bioresources. 8; 3438-3452.
23. Lemos, Antonio S. Araujo, Valter José Fernandes Júnior, Amanda Duarte Gondim (2018). Catalytic pyrolysis of glycerol in the presence of Nickel (II) Schiff basecomplex supported in SBA-15: Kinetic and products (TG-FTIR and PY-CG/MS. J. Thermochimica Acta. 669;160-168.
24. M. Contreras-Padilla, E. Pérez- Torrero, M.I. Hernández-Urbiola, G. Hernández-Quevedo, A. del Real, E.M. Rivera-Muñoz, M.E. Rodríguez- García (2011). Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus indica* var. redonda) at different maturity stages. J. Food Compos. Anal. 24; 38-43.
25. Margarita Contreras-Padilla, Mario E. Rodríguez-García, Elsa GutiérrezCortez, M. del Carmen ValderramaBravo, J. Isela Rojas-Molina, Eric M. Rivera-Muñoz (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus* mucilage at three different maturity stages of cladode. J. European Polymer. 78; 226-234.
26. Maria J. Costa, Arlete M. Marques, Lorenzo M. Pastrana, José A. Teixeira, Sanna M. Sillankorva, Miguel A. Cerqueira (2018). Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. Food Hydrocolloids 81; 442-448.
27. McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R. J., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible film: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. Journal Food Science, 58(4), 899–903.
28. Mingyong Zhou, Taoran Wang, Qiaobin Hu, Yangchao Luo (2016). Low density lipoprotein/pectin complex nanogels as potential oral delivery vehicles for curcumin. J. Food Hydrocolloids. 57; 20- 29.

29. Minna Luo, Yong Cao, Wenbo Wang, Xia Chen, Jiyang Cai, Ling Wang, Jie Xiao (2019). Sustained-release antimicrobial gelatin film: Effect of chia mucilage on physicochemical and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*. 87; 783-791.
30. Mohammad Jouki, Seyed Ali Mortazavi, Farideh Tabatabaei Yazdi and Arash Koocheki. (2014). Optimization of extraction, antioxidant activity and functional properties of quince seed mucilage by RSM. *Journal of Biological Macromolecules*. 66; 113-114.
31. Mounir El Achaby, Nassima El Miri, Hassan Hannache, Said Gmouh, Hicham Ben youcef, Adil Aboulkas (2018). Production of cellulose nanocrystals from vine shoots and their use for the development of nanocomposite materials. *International Journal of Biological Macromolecules* 117, 592-600.
32. Muhammad Mujtaba, Lalehan Akyuz, Behlul Koc, Murat Kaya, Sedef Ilk, Demet Cansaran-Duman, Asier Salaberria Martinez, Yavuz S. Cakmak, Jalel Labidi, Sami Boufi (2019). Novel, multifunctional mucilage composite films incorporated with cellulose nanofibers. *J. Food Hydrocolloids*, 89; 20-28.
33. Nafchi, Abdorreza & Olfat, Ali & Bagheri, Mina & Nouri, Leila & Karim, Alias & Fazilah, A. (2017). Preparation and characterization of a novel edible film based on *Alyssum homolocarpum* seed gum. *Journal of Food Science and Technology*. 54 (6); 1703-1710.
34. Natália Leite Oliveira, Adrise Aparecida Rodrigues, Isabelle Cristina Oliveira Neves, Amanda Maria Teixeira Lago, Soraia Vilela Borges, Jaime Vilela de Resende (2019). Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. *Industrial Crops and Products*. 130; 499-510.
35. Newman, A. W., & Kwok, D. Y. (1999). Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 81(3), 167–249.
36. Óscar L. Ramos, Isabel Reinas, Sara I. Silva, João C. Fernandes, Miguel Â. Cerqueira, Ricardo N. Pereira, Antonio M. Vicente, M. Fátima Pocas, Manuela E. Pintado, F. Xavier Malcata (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *J. Food Hydrocolloids*. 30; 110-122
37. P.R.S.Teixeira,A.S.d.N.M.Teixeira,E.A.d.O.Farias,D.A.daSilva,L.C.C.Nunes,C.M.da Silva Leite, E.C. da Silva Filho, C. Eiras (2018). Chemically modified babassu coconut (*Orbignya* spp.) biopolymer: characterization and development of a thin film for its application in electrochemical sensors, *J. Polym. Res.* 25 (5)127.
38. Petera, B., Delattre, C., Pierre, G., Wadouachi, A., Elboutachfai, R., Engel, E., (2015). Characterization of arabinogalactan- rich mucilage *Cereus triangularis* cladodes. *J. Carbohydrate Polymers*.127; 372-380.
39. Ramos, O. L., Reinas, I., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 30, 110e 122.
40. Sadeghi-Varkani A., Emam-Djomehz., Askari (2018). Physicochemical and microstructural properties of a novel edible filmsynthesized from Balangu seed mucilage. *Journal of Biological Macromolecules*, 108, 110-1119.
41. Salgado, P. R., López-Caballero, E., Gómez-Guillén, M. C., Mauri, A. N., & Montero, M. P. (2013). Sunflower protein films incorporated with clove essential oil have potential application for the preservation of fish patties. *Food Hydro- colloids*, 33, 74e84.
42. Sharma, L., Singh, C., (2016). Sesame protein based edible films: development and characterization. *Food Hydrocoll.* 61, 139–147.
43. Soukoulis, Christos & Gaiani, Claire & Hoffmann, Lucien. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*. 22; 28-42.

44. Sucheta, Kartikey Chaturvedi, Nitya Sharma, Sudesh Kumar Yadav (2019). Composite edible coatings from commercial pectin, corn flour and beetroot powder minimize post-harvest decay, reduces ripening and improves sensory liking of tomatoes, *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 284-293.
45. W.G.T. Willats, J.P. Knox, J.D. Mikkelsen (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel, *Trends Food Sci.Technol.* 17 97–104.
46. Weirong Cai, Xiaohong Gu and Jian Tang (2008). Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *J. Carbohydrate Polymers*. 71; 403-410.
47. Zhongshan Zhang, Xiaomei Wang, Chongbin Liu and Jingfen Li (2016). The degradation, antioxidant and antimutagenic activity of the mucilage polysaccharide from *Dioscorea opposita*. *J. Carbohydrate Polymers*. 150; 227-231.



CAPÍTULO 4

Efecto de películas a base de pectina-mucílago de nopal hidróponico sobre la calidad y vida de anaquel de manzana Golden

Article: Effect of films based on pectin-hydroponic mucilage on the quality and shelf life of Golden apple, Food Packaging and Shelf Life, 2019.

Brenda Luna-Sosa^a, Humberto Rodríguez-Fuentes^a, Guillermo C.G. Martínez-Ávila^a, Cristobal N. Aguilar^b, Juana Aranda-Ruiz^a, Mayra Treviño-Garza^c & Romeo Rojas^{a*}

^a Universidad Autónoma de Nuevo León, Research Center and Development for Food Industries, School of Agronomy. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

^b Universidad Autónoma de Coahuila, Professor (full). Department of Food Research. School of Chemistry. Blvd. V. Carranza s/n. Col. República Oriente C.P.25280 Saltillo, Coah. México.

^c Universidad Autónoma de Nuevo León, Research Center and Development for Biological Sciences, School of Biological Sciences. Pedro de Alba, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., México.

*Correo electrónico: romeo.rojasmln@uanl.edu.mx

4.1. Resumen

En la actualidad existe una fuerte demanda de frutos sanos y enriquecidos nutritivamente. Sin embargo, todos estos productos son perecederos en distinta medida, a pesar de su contenido de ácido ascórbico, el cual sirve para inhibir la actividad enzimática y conservar el estado natural de los frutos. Esto ha llevado al desarrollo de tecnologías que prolonguen la vida de anaquel de diferentes productos. La causa de deterioro de los alimentos puede ser de origen químico, físico o microbiológico. El mercado de la manzana continua su tendencia a la alza y se expande por los atributos que la caracterizan. No obstante, esta sufre pardeamiento en un ambiente térmico por lo que es importante explorar, estudiar y conservar el producto en condiciones ambientales e inocuas para el consumo, manteniendo sus propiedades y reduciendo costos para su almacenamiento. Para este estudio, la manzana Golden delicious fue sanitizada y cubierta por inmersión con mucílago de nopal hidropónico con el fin de evaluar su vida en anaquel. Los atributos de estabilidad en los parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, vitamina C y ácido ascórbico), microbiológicos (inhibición de hongos y levaduras) y de calidad (atributos de textura, sabor, color e IDC) se evaluaron en condiciones de almacenamiento (35 días a 25 ± 1 °C) en condiciones de almacenamiento. Factores fisicoquímicos como la pérdida de peso fueron registrados entre 135 g y 125 g como valor mínimo en el día 17. El color varió durante madurez de las manzanas (68.41-70.24) en la luminosidad. La firmeza se mantuvo estable, registrándose un valor máximo de 625.49 g en la aplicación del mucílago Vi al finalizar el período de prueba. Por otro lado, se encontró una estabilidad también en la determinación microbiológica (<35 UFC/g) durante los 35 días de evaluación. La acidez y la vitamina C resultaron ser más altas para las manzanas cubiertas con Vi. La aceptación sensorial fue mayor para las manzanas cubiertas con mucílago CF1. Finalmente, la adición de las películas comestibles a base de mucílago de nopal no afecta la calidad sensorial de frutos después de su aplicación, siendo apta para su ingesta.

Palabras clave: Vida de anaquel, manzana, mucílago Villanueva y Copena F1.

4.2. Abstract

Currently, there is a strong demand for healthy and nutritiously enriched fruits. However, all these products are perishable to a different extent, despite their ascorbic acid content, which serves to inhibit the enzymatic activity and preserve the natural state of the fruits. This has led to the development of technologies that extend the shelf life of different products. Food spoilage can have

chemical, physical or microbiological causes. The apple market continues its upward trend and expands by the attributes that characterize it. However, it suffers browning in a thermal environment, so it is important to explore, study and preserve the product in environmental and safe conditions for consumption, maintaining its properties and reducing costs for storage.

For this study, the Golden delicious apple was sanitized and covered by immersion with hydroponic nopal mucilage in order to assess its shelf life. The attributes of stability in the physicochemical parameters (pH, soluble solids, vitamin C and ascorbic acid), microbiological (fungal and yeast inhibition) and quality (texture, flavor, color and IDC attributes) occurred at $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ under storage conditions for 35 days. Physicochemical factors such as weight loss were recorded between $> 135\text{ g}$ and $< 124\text{ g}$ as a minimum value. The color varied along with the ripeness of the apples (68.41-70.24) in brightness. The firmness remained stable, registering a maximum value of 625.49g in the application of the Vi mucilage on the last day of the test. There was also stability in the microbiological determination, with $< 35\text{ CFU / g}$ maximum reported during the 35 days of evaluation. Acidity and vitamin C turned out to be higher for apples covered with Vi. Sensory acceptance was higher for apples covered with CF1 mucilage. The addition of edible films based on nopal mucilages does not affect the sensory quality of fruits after application, being suitable for consumption.

Keywords: *Shelf life, Apple, Villanueva and Copena F1 mucilages.*

4.3. Introducción

Actualmente en México y en todo el mundo los alimentos son desperdiciados desde la producción inicial hasta el consumo en fresco por los consumidores que se da de forma accidental o intencional, provocando una baja disponibilidad de productos comestibles para la humanidad. De acuerdo con lo anterior, cuando se llega a un límite excesivo por parte de los consumidores el desperdiciar genera pérdidas importantes en la mano de obra e insumos utilizados para el suministro alimentario sin tomar en cuenta que la mayoría de los productos desechados pueden estar en un estado aceptable para su consumo mientras muchas personas día a día sufren de hambre. Alrededor de un tercio de los alimentos producidos en el mundo para el consumo humano (1,300,000 toneladas anuales) se pierden. La Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO) estima que el desperdicio generado por persona de un alimento es de 95 a 115 kg/año en Europa y América del Norte, mientras que en el África subsahariana y en Asia meridional y sudoriental esta cifra representa solo de 6 a 11 kg/año (FAO, 2012).

Las etapas involucradas donde se desarrolla el desperdicio de alimentos son: la producción agrícola (criterios de manipulación del cultivo a partir de la siembra hasta la recolección de fruto), manejo post-cosecha (causas microbiológicas, químicas, mecánicas y de ambiente), distribución y consumo (mercado de venta y compra por parte de los consumidores). La importancia de disminuir las pérdidas de cultivos y mantener la calidad de las frutas frescas durante un período más largo son una prioridad para todos los productores conlleva a desarrollar nuevas tecnologías para la conservación de la fruta y así cubrir la demanda de alimentos más saludables y naturales para el consumo humano (Henriette

et al., 2018).

La industria de envases comestibles ha tenido un crecimiento notable en los últimos años y se espera tener un gran impacto importante en el mercado de los alimentos para el futuro. Este crecimiento se debe a la demanda de los consumidores de alimentos que cumplan con mayores estándares de calidad, del conocimiento y tecnología en el área de las películas comestibles a través de la ciencia y tecnología del procesamiento de materiales. El impacto de la sostenibilidad y el interés en el uso de los recursos renovables ha creado interés por científicos para generar investigaciones en el área de “recubrimientos y películas comestibles” con la perspectiva de garantizar la seguridad y calidad de los productos alimenticios. Debido a la preocupación de sustituir empaques plásticos por biodegradables, existen diversos estudios de películas comestibles, que además de las características otorgadas pueden ser ingeridas con el alimento. Es importante tener en cuenta que la elaboración de las películas comestibles depende de los aditivos como la manipulación de los mismos para conferir a la matriz propiedades mecánicas y de barrera deseables con la finalidad de preservar la humedad y oxígeno en el producto al que se desee aplicar sin modificar las características organolépticas como el sabor, olor, textura, entre otras (Sibu *et al.*, 2018).

En México, la manzana *Golden Delicious* es una de las frutas más importantes. La producción nacional de manzanas *Golden Delicious* es de 375, 055 t por año y en el estado de Coahuila se produce en torno al 10%. La región de cultivo de manzanas se encuentra en la Sierra de Arteaga, principalmente en lugares como Carbonera, Los Lirios, El Tunal, Jamé, San Antonio de Alazanas y Huachichil. Sin embargo, la producción de Apple *Golden Delicious* se ve fuertemente afectada por su corta vida útil en la poscosecha porque es una fruta perecedera de tipo climaterial, lo que significa que incluso en condiciones de refrigeración esta fruta puede descomponerse (Miguel *et al.*, 2018). La producción de la manzana involucra una serie de etapas, como son la cosecha, el transporte y el almacenamiento, en las que se debe tener ciertos parámetros y cuidados para evitar pérdidas o daños en el producto. Aunque en la etapa de cosecha puede haber problemas por la inadecuada manipulación de la fruta, la mayoría de los problemas se tienen en la post-cosecha. La humedad y la temperatura son importantes factores que contribuyen con la aparición de enfermedades en las manzanas, facilitando la presencia de plagas y microorganismos. Uno de los microorganismos más frecuentes en la manzana y que disminuye su vida útil, es el hongo del género *Penicillium*, principalmente la especie *Penicillium expansum*. Las principales variedades de manzana son early red one, top red, red delicious, starking, royal gala, grany smith, golden supreme, golden delicious, reineta gris del Canadá y mcintosh (Гудковский *et al.*, 2012; Varela, Salvador y Fiszman, 2008; Juhnevica *et al.*, 2014).

De acuerdo con lo anterior, es muy escasa la información sobre el efecto de películas comestibles a base de mucílagos de nopal-pectina sobre la calidad y vida útil de la manzana. La aplicación de una película comestible no perceptible a base de mucílago de nopal, pectina y glicerol a manzanas Golden Delicious, podría incrementar su resistencia a hongos y levaduras sin reducir la pérdida de agua y prolonga la vida útil sin alterar las propiedades organolépticas.

4.4. Materiales y Métodos

4.4.1. Material biológico

Los mucílagos hidropónicos de nopal de Copena F1 y Villanueva con un estado de madurez de 45 días previamente caracterizados (Capítulo 2). Pectina (Sigma- Aldrich, Canadá) de Ácido galacturónico de ≥ 74.0 %. Glicerol ≥ 99.5 % (Sigma Aldrich). Se trabajó con un lote de 250 manzanas Golden adquiridas en el Mercado de Abastos Estrella, San Nicolás de los Garza, N.L., procedentes de Ciudad Juárez, Chihuahua. Para contar con lotes homogéneos, las manzanas se seleccionaron eliminando aquellas que presentaban lesiones mecánicas y se aceptaron las de apariencia firme, libres de hongos visibles y de color homogéneo, así como con su olor a característico.

4.4.2. Preparación de películas a base de inmersión

Las películas CF1sf y Vacsf fueron seleccionadas debido a las propiedades que estas aportaban respecto a la caracterización realizada para estos tratamientos (Capítulo 3). Se prepararon tres soluciones formadoras de película en agua destilada estéril, mediante agitación mecánica cada 20 minutos, hasta su completa homogeneización. CF1sf y Visf con la misma concentración (2.5 g de mucílago más 1.5 g de pectina y 0.5 g de glicerol en 100 mL de agua destilada). Las soluciones formadoras se realizaron en vaso de precipitado de 100 mL previamente esterilizado, cubiertos con papel parafilm y almacenados a temperatura ambiente. Las formulaciones fueron sometidas a la eliminación de exceso de burbujas a través de vacío por inyección con una manguera sujeta en los matraces Erlenmeyer de 250 mL. Se realizaron 5 repeticiones por cada tratamiento.

4.4.3. Aplicación de las soluciones formadoras de película sobre las manzanas

Las manzanas seleccionadas fueron lavadas con agua corriente y desinfectadas por inmersión en una solución de hipoclorito (250 mg kg^{-1}) por 1 min, se lavaron con agua destilada, se secaron con toallas de papel. Todos los materiales (superficies y utensilios) en contacto con el fruto fueron desinfectados previos a su uso. Se utilizaron tres tratamientos diferentes: 1) Manzana sin película (Ctrl), 2) Manzana cubierta con mucílago Villanueva sin fibra (Visf) y 3) Manzana cubierta con mucílago Copena F1 sin fibra (CF1sf). Las manzanas completas se sumergieron por inmersión 10 minutos en charolas de plástico de $20 \times 15 \times 7''$ limpias. Las frutas se dejaron escurrir para eliminar el exceso del recubrimiento hasta su secado en rejillas de aluminio a temperatura ambiente ($20 - 25^\circ\text{C}$) en una campana de flujo laminar (biobase). Como Ctrl se utilizó la fruta sin solución formadora de película. Finalmente, las manzanas control y las manzanas cubiertas fueron almacenadas en una mesa de acero inoxidable envuelta de papel aluminio a temperatura ambiente de 25°C con una humedad relativa (HR) de 59 % durante 35 días. Se realizaron los respectivos análisis para cada uno de los tratamientos y parámetros (físicoquímicos cada 7 días), los sensoriales y microbiológicos al tiempo 0, 17 y 35 días en un período de 35 días.



Figura 4.1. Procesamiento de las manzanas Golden para su conservación.

4.4.4. Análisis microbiológico de las manzanas

4.4.5. Preparación y dilución de las muestras

Se pesaron 10 g de manzana en bolsas estériles (Nasco Whirl-Pak 18 oz), se colocaron en la bolsa de 90 mL de agua peptonada estéril ($0.85\% \text{ NaCl}$ y $0.10\% \text{ peptona}$, preparada en los frascos de dilución) y se homogeneizó por 1 min (esta es la dilución 10^{-1}). Posteriormente se realizaron las diluciones seriadas necesarias para el análisis microbiano ($10^{-2} - 10^{-6}$); para hacer la dilución 10^{-2} se

toma 1 mL de la dilución 10^{-1} y se colocó en 9 mL de solución salina estéril (0.85 % NaCl, preparada en tubos de dilución) y así sucesivamente (Treviño-Garza *et al.*, 2015)

4.4.6. Siembra en placa para crecimiento de hongos y levaduras

Se sembró 1 mL de cada dilución en placas de Petri estériles y se agregó entre 15 – 20 mL de Agar papa dextrosa (PDA acidificado con ácido tartárico estéril al 10 %; 1.4 mL del ácido tartárico por 100 mL del medio), se homogeneizaron las placas e incubaron a 24 ± 2 °C por 5 días. Los resultados se expresón como unidades formadoras de colonias por g de fruta por UFC g⁻¹ (Treviño-Garza *et al.*, 2015).

4.4.7. Evaluación sensorial de las manzanas

Para evaluar la aceptación de los productos se realizaron análisis sensoriales. Los parámetros sensoriales de color, olor, sabor, textura y aceptación fueron evaluados por panelistas (n=40) no entrenados durante un período de 35 días de almacenamiento (días 0,7, 17 y 35). Los panelistas fueron estudiantes y maestros (20 a 60 años) de nuestra institución a quienes les gusta la manzana. Las frutas frescas cortadas con y sin recubrimiento fueron presentadas al azar a los panelistas y las variables fueron evaluadas con valores cualitativos en un rango de 1 – 5 (malo a excelente). Las muestras se consideraron aceptables cuando recibieron puntuaciones mayores o iguales a 2.5. Este criterio fue utilizado para determinar la vida de anaquel del producto (Treviño-Garza *et al.*, 2015).

4.4.8. Índice de decaimiento

Los panelistas evaluaron a detalle la ausencia o presencia de hongos, tanto en las frutas recubiertas con las diferentes formulaciones como en el control. Los síntomas de deterioro causado por la presencia de hongos en los frutos se evaluaron visualmente de acuerdo con la siguiente escala: 1= no dañado (0 %); 2= daño ligero (0 – 25 %); 3=daño moderado (25 – 50 %); 4=daño severo (50 – 75 %) y 5=completamente dañado (75 – 100 %) (Treviño-Garza *et al.*, 2015).

4.4.9. Análisis fisicoquímico de las manzanas con la solución formadora de película

4.4.10. Pérdida de peso, °Brix, color, firmeza, acidez titulable y Vitamina C

Se registraron los pesos (n=10) individuales en base al método AOAC (1994). La diferencia entre el peso inicial y final de las frutas fue considerada como la pérdida total de peso y los resultados fueron expresados en porcentajes. Para la determinación del contenido de sólidos solubles totales (SST), se molió la muestra (1.5 g) de n=5 para cada tratamiento (De León *et al.*, 2018) y se colocó 1 gota en el refractómetro digital (0-23 °Brix). El perfil CIELAB del color en la manzana fue analizado directamente en cuatro ángulos (cuadrante) con un colorímetro minolta de la fruta (n=3) (Gheribi *et al.*, 2018). Para firmeza se usó un penetrómetro en n=5 manzanas con la ejecución de un disco con aguja de 2 mm estandarizado para pomáceas (De León *et al.*, 2018). Los resultados fueron expresados en kg. Un total de 5 g de manzana (n=5) repeticiones de cada tratamiento fueron molidas para el análisis de pH digital previamente calibrado con amortiguadores 4 y 7. La acidez titulable se determinó en base al método AOAC 942.15 mediante una titulación con una solución NaOH 0.1 N usando fenolftaleína como indicador (viraje rosa). El resultado se expresó en % de ácido cítrico. La vitamina C se realizó por titulación. A 10 g de manzana se le adicionaron 4mL de ácido acético, 10mL de yoduro de potasio y 1mL de solución de almidón, posteriormente se realizó una titulación con yodo al 0.01 N (Tavarez, 2005). El % de vitamina C se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Vitamina C} = \frac{(\text{mL de Yodo})(N)(0.089)}{(\text{Peso en g de muestra})} \quad \text{Ec. (1)}$$

N= Normalidad del yodo (0.01 N); Meq= miliequivalentes del yodo (0.1 N= 0.089) y V=Volumen de Yodo gastado.

4.4.11. Análisis estadístico

Los resultados de los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Tukey. Se utilizó un diseño completamente al azar con n= 10 para los distintos análisis y como unidad experimental fue una manzana por el lote de 250 manzanas. A los resultados que estaban en porcentaje se les realizó una transformación para normalizar los datos y luego aplicar el ANOVA mediante la siguiente fórmula: $P' = \arcsen \sqrt{P} // P' = \text{Sen}^{-1} \sqrt{P}$. Los resultados del análisis sensorial se sometieron a una prueba de Kruskal-Wallis en Excel (2010) y en el programa IBM SPSS Statistics para realizar los análisis de varianza (ANOVA).

4.5. Resultados y Discusión

4.5.1. Recuento de hongos y levaduras

Según los grupos de homogeneidad indicados con letras en las gráficas, si hubo diferencias si hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (Figura 4.2). En el caso de hongos y levaduras oscilaron de 1, 11 y 24 UFC g⁻¹ para el día inicial. Para el 35 los valores fueron de 12, 13 y 34 UFC g⁻¹. La estabilidad microbiológica entre los tratamientos se debió a la protección de barrera generada en las manzanas y a la actividad antimicrobiana de los mucílagos durante el almacenamiento. Las películas a base mucílagos de nopal mantienen valores de color altos de la fruta. Hasta donde sabemos, no hay estudios de evaluaciones microbiológicas en manzanas frescas enteras y cubiertas con Visf y CF1sf mantenidas en condiciones ambientales. Previos estudios han mezclados mucílagos en conjunto con ceras extraídas de extractos de plantas, agentes antimicrobianos y polisacáridos que son considerados de base no biológica. De León *et al.*, (2018) evaluaron la vida de anaquel en las manzanas con nanocubiertas de compuestos bioactivos en condiciones industriales e incrementaron significativamente. Yurong *et al.*, (2019) utilizaron metilciclopropeno (1-MCP) en manzanas para conocer su vida útil y poder antioxidante. Shin *et al.*, (2017) reportaron valores de 4 a 6 log UFC/g de hongos y levaduras en manzanas cubiertas con agentes antioxidantes y microbianos provenientes de plantas. Noshad, Joneidabad y Badvi, (2019) evaluaron los efectos del mucílago al incorporarlo en manzanas cortadas y almacenadas a 4 °C por 10 días y encontraron valores de 2.2 hasta 3 log UFC g⁻¹ de microorganismos (*Plantago major*, *Plantago psyllium* y *D. Sophia*). Estos valores fueron mayores a los nuestros, ya que la actividad microbiana fue distinta a la nuestra en el desarrollo de hongos y levaduras. Esto posiblemente se observó debido a los compuestos fenólicos difusos en la membrana citoplasmática, la fuerza de movimiento de protones interrumpida y la corriente eléctrica y el contenido de células coalescentes Noshad, Joneidabad y Badvi, (2019).

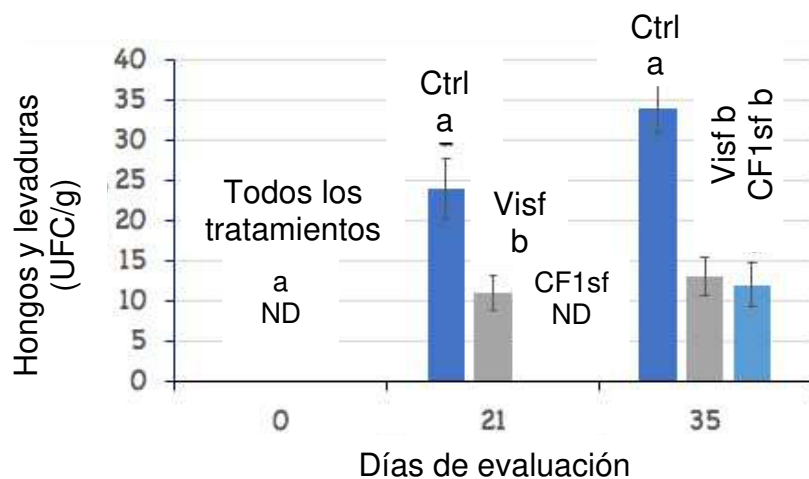


Figura 4.2. Efectos de las películas comestibles en el análisis microbiológico (UFC/g) de manzanas enteras durante el día 0, 21 y 35 almacenadas a temperatura ambiente. Los controles fueron hongos y levaduras.

4.5.2. Evaluación sensorial

4.5.3. Color, olor, sabor, textura, IDC y aceptación general

Según el análisis sensorial evaluado, no se encontraron diferencias significativas entre las variables sensoriales ($p < 0.05$) en todos los días de almacenamiento para el factor olor, textura, apariencia e índice de decaimiento (IDC). Estas variables tienen impacto en los atributos típicos de la manzana y esto influye en la aceptación o rechazo del mismo. Durante el almacenamiento de las manzanas para la variable del color en el día 21 fue para CF1sf 4.25 el más alto seguido de Ctrl 3.62 y Visf de 3.92. En el día 35 para el sabor de las manzanas Ctrl y CF1sf fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$) con valores 3.77 y 3.90. Sin embargo, Visf tuvo 3.15. Los cambios generados y observados durante el almacenamiento de los frutos no hubo diferencias significativas. Para el tiempo inicial los datos se mantuvieron estables (Figura 4.3) y presentaron evaluaciones positivas, ya que las frutas conservaron su estado natural. El olor describía a través del tiempo la intensidad de respiración de las manzanas en medida que aumentaba su desarrollo. El color generaba una transición de amarillo a un tono hidratado por el efecto de la clorofila de los polímeros, en específico los de los mucílagos. Cuando la clorofila se descompone genera colorantes enmarcados (carmín, púrpura y café opaco). Además, aumenta la producción de colores rojizos y amarillos típicos de la maduración. El sabor y los cambios de aroma fueron característicos para el día 21 en las manzanas, que proporcionaron los hidratos de carbono y el dulzor típico en la disminución del sabor agrio inicial. La temperatura es un parámetro que influye en la vida de anaquel en frutos ricos en vitamina E, ya que proporcionó cambios en el aroma. El comportamiento de ablandamiento e índice decaimiento fueron atribuidas a la pectina adicionada y protopectina que atrapa agua formando una especie de malla, que proporciona a la manzana no madura su particular textura. Con la maduración, ésta sustancia disminuye generando

pectinas solubles. Se menciona que a través de la aplicación de cubiertas de mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*) redujo considerablemente el deterioro de las manzanas, durante más de 15 días a 37 °C. También sus índices de deterioro disminuyeron significativamente al aplicar concentraciones de canela.

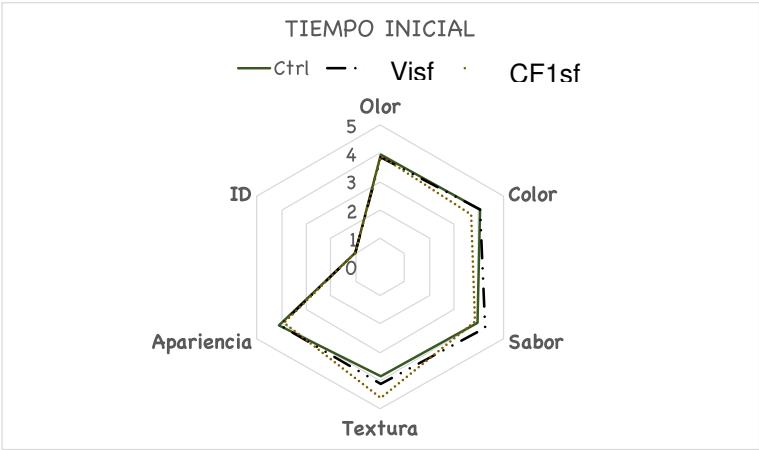


Figura 4.3. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el tiempo inicial a 25 ± 1 °C.

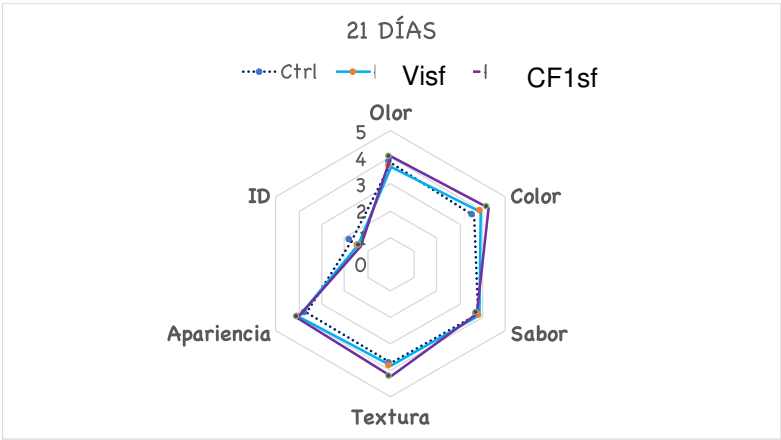


Figura 4.4. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el día 21 a 25 ± 1 °C.

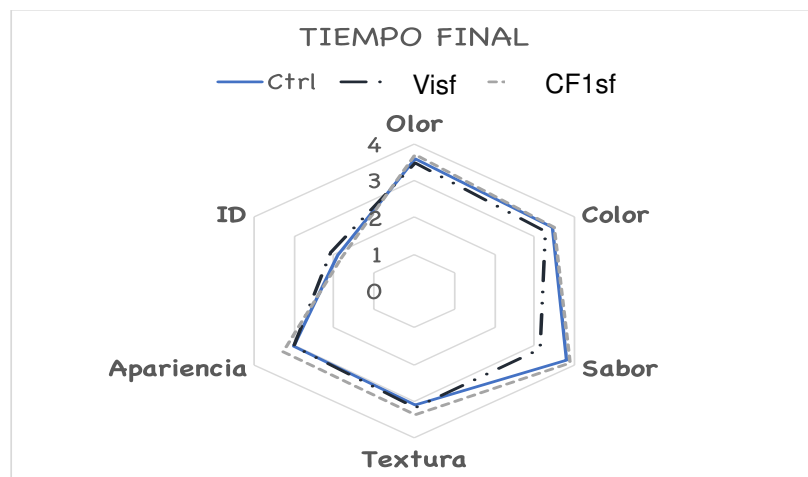


Figura 4.5. Color, olor, sabor, apariencia, textura e ID de las manzanas enteras y evaluadas en el día final a 25 ± 1 °C.

La aplicación de estos materiales redujo el desarrollo de hongos y levaduras en un período de 35 días. Por lo que, la efectividad general sensorial presentó el siguiente orden: CF1sf, Ctrl y Visf.

4.5.4. Índice de decaimiento

Todos los tratamientos presentaron puntuaciones positivas antes los daños visibles causados por hongos y levaduras en comparación con el Ctrl. El IDC se mantuvo constante durante los primeros 17 días de almacenamiento, sin embargo, a partir del 21, se encontraron estables los tratamientos pero en el Ctrl se incrementó el daño causado por la senescencia. En los días 28 y 35 para el Ctrl fue severo el daño por hongos, lo que indica que los mucilagos ayudaron a retrasar los daños causados por microorganismos. De León *et al.*, (2018) estimaron la vida de anaquel de la manzana cortada en frigoconservación en 56 días, sin embargo, fue utilizada la cera de candelilla para inhibir el paso de microorganismos.

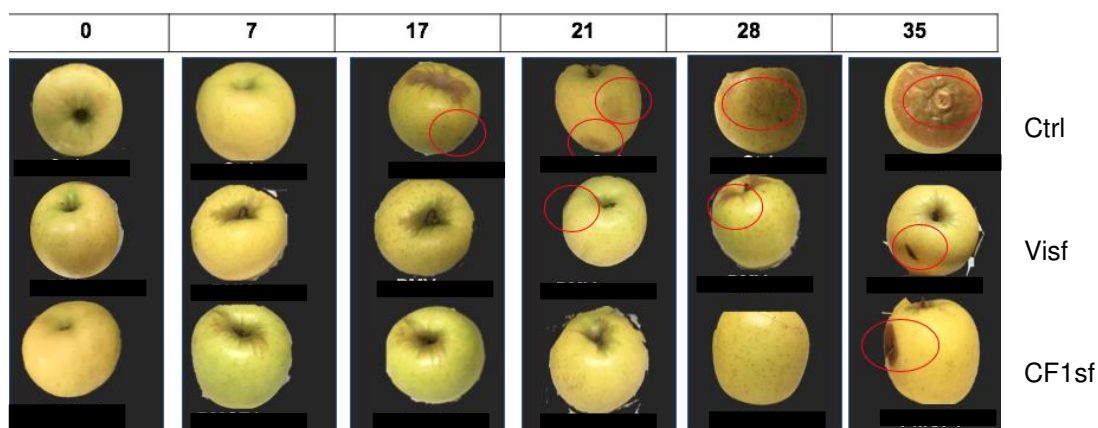


Figura 4.6. Manzana entera cubierta con mucilagos y control, almacenada durante 0, 7, 17, 21, 28 y 35 días a 25 ± 1 °C.

4.5.5. Pérdida de peso

Las manzanas cubiertas con películas no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre sí. El valor fundamental de este parámetro es la relación masa/volumen de las manzanas específicamente. La Figura 4.7 muestra el comportamiento de la estabilidad de humectación en las frutas. La pérdida de peso de Ctrl fue de 2.59 % para el día “0”, 4.73 % para el día “17” y 9.99 % para el día “35”. Las pérdidas de peso registradas para el Ctrl promedio durante el almacenamiento de las manzanas fue de 5.88 %. Por otro lado, las manzanas cubiertas con mucílagos tuvieron de 5.30-8.25 %, estos valores fueron similares en comparación con el Ctrl, sin embargo, fueron estadísticamente iguales. Los tratamientos fueron más eficientes en los días 17, 28 y 35 días, ya que variaron mínimamente sus valores con el transcurso del tiempo, logrando una estabilidad a pesar de la ligera variación en el día 21. Esto indica que el comportamiento estable observado podría deberse al contenido de azúcares y ácidos orgánicos representen una pequeña proporción del peso en la fruta como el mucílago y el resto de los compuestos pudieran ser una fuente de sustrato para su respiración ante la producción de etileno (Panhui Fan *et al.*, 2018). Otra característica peculiar es la de los mucílagos que fueron capaces de retener y mantener estable el flujo de agua sobre las manzanas.

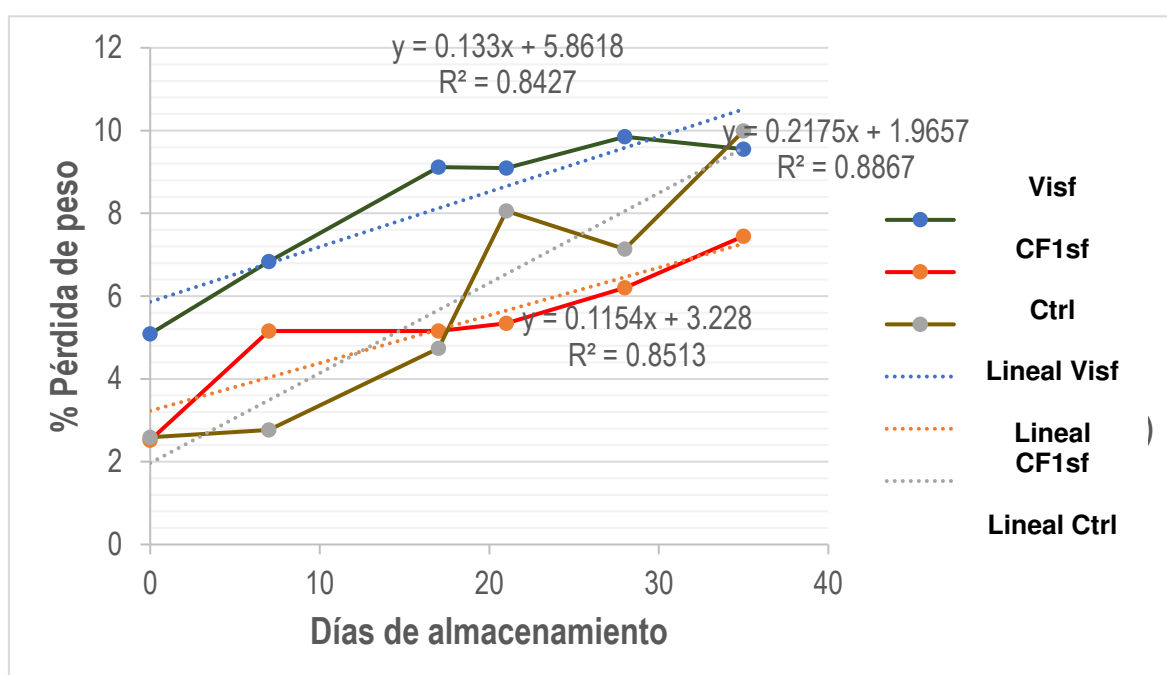


Figura 4.7. Pérdida de peso de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.

4.5.6. Sólidos solubles totales

Este parámetro indicó el estado de madurez y el contenido de sólidos solubles totales almacenado en las manzanas. Se presentaron ligeras variaciones entre los tratamientos observados en la Figura 4.8. Los valores iniciales de SST oscilaron de 18° Brix, siendo iguales. Estos resultados fueron similares a los encontrados en estudios previos (Nicolás-Pereira, 2011). Se observaron diferencias significativas a partir del día 7, 28 y 35 durante el tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$). Los °Brix promedio para el período final fueron de 18.40° para Ctrl, 13.71° para Visf y 13.71° para CF1sf. Nuestros valores se encontraron por arriba de los evaluados por Capistrán-Carabarin *et al.*, (2017), fueron de 10.2 y 8.4 ° Brix. Los mucílagos actúan como matriz protectora a la interacción con gases y dan poca liberación de O_2 que retrasa la madurez en las frutas. Además, la estabilidad de SST se genera por la hidrólisis de almidones y ácidos orgánicos que son transformado directamente en azúcares simples a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento.

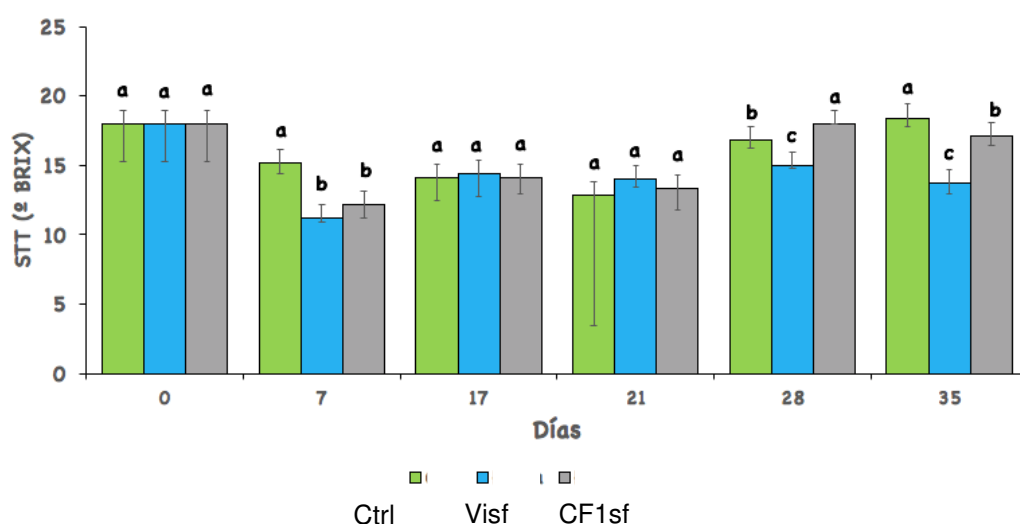


Figura 4.8. ° Brix de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.

4.5.7. Color y pérdida de firmeza

El análisis de color para las manzanas cubiertas con mucílagos fue similar entre sí, con diferencias significativas ($p < 0.05$). A través del almacenamiento se observó en la Cuadro 4.1. que los valores se mantenían con respecto a los tratamientos Visf y CF1sf. Por lo que, el control fue el que más cambió en los datos durante la maduración de las manzanas. El valor inicial de L^* para el tiempo inicial en el Ctrl fue de 72.08, siendo el más alto. Sin embargo, Visf osciló de 70.76 y finalmente CF1sf con 67.85. Para el día 35 la variable L^* fue estadísticamente igual entre los tratamientos (68.41, 69.19 y 70.24). Para la coordenada a^* se presentó una disminución de los valores a partir del día 28 (3.26, 4 y 4.87)

y un ligero aumento para el día 35 (4.13, 5.31 y 8.97). La luminosidad y la coordenada son parámetros esenciales para observar los cambios de oscurecimiento de las frutas. La oxidación en las manzanas se presentó ligeramente a partir del día 28 y 35. Las coordenadas cromáticas de saturación se mantuvieron en los tratamientos. Visf comenzó con 51.90 y finalizó con 49.64. CF1sf inició con 57.40 y para el día 35 fue de 47.81. El Ctrl fue mayor al día 35 (53.80) en comparación con el inicial (49.12). Lo anterior describe el efecto positivo que tuvieron las películas de mucílagos en la aplicación de las manzanas para su conservación física debido a la ligera transformación de fenoles a quinonas que tuvieron las frutas durante su almacenamiento.

Cuadro 4.1. Efecto de las películas con y sin mucílagos en el color (L^* , a^* y b^*) de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.

DÍA	TRATAMIENTO	L	a^*	c	b
0	Ctrl	72.08 ± 1.41^a	6.56 ± 1.90^a	49.12 ± 1.03^b	48.12 ± 1.47^a
	Visf	70.76 ± 2.67^{ab}	5.86 ± 2.30^a	51.90 ± 7.78^{ab}	52.08 ± 7.35^a
	CF1sf	67.85 ± 2.45^b	9.26 ± 2.56^a	57.40 ± 3.09^a	54.33 ± 4.06^a
7	Ctrl	68.88 ± 2.70^a	1.70 ± 4.46^a	48.78 ± 2.10^a	47.78 ± 3.52^a
	Visf	68.84 ± 3.97^a	2.90 ± 2.70^a	46.52 ± 4.45^a	46.18 ± 4.51^a
	CF1sf	66.95 ± 3.07^a	-0.68 ± 1.42^a	43.70 ± 4.54^a	43.80 ± 4.47^a
17	Ctrl	71.28 ± 1.07^a	4.82 ± 1.70^a	52.18 ± 1.75^a	51.94 ± 1.67^a
	Visf	69.54 ± 6.11^a	4.76 ± 2.18^a	48.46 ± 8.57^a	48.16 ± 8.83^a
	CF1sf	69.88 ± 1.71^a	6.32 ± 3.00^a	49.18 ± 4.63^a	48.66 ± 4.97^a
21	Ctrl	70.24 ± 1.77^a	18.28 ± 20.09^a	55.42 ± 3.00^a	55.62 ± 3.16^a
	Visf	69.20 ± 3.65^a	6.84 ± 3.18^a	50.64 ± 1.48^a	51.18 ± 1.64^{ab}
	CF1sf	69.12 ± 3.30^a	8.68 ± 3.81^a	50.46 ± 2.94^b	49.58 ± 3.34^a
28	Ctrl	70.25 ± 3.23^a	3.26 ± 2.50^a	50.48 ± 1.45^a	47.95 ± 2.34^a
	Visf	68.13 ± 3.27^a	4.87 ± 2.35^a	47.49 ± 4.63^a	49.13 ± 3.17^a
	CF1sf	65.63 ± 2.79^a	4.00 ± 1.80^a	46.44 ± 1.94^a	49.06 ± 3.07^a
35	Ctrl	70.24 ± 0.90^a	4.13 ± 2.29^b	53.80 ± 1.46^a	49.86 ± 1.99^a
	Visf	69.19 ± 2.88^a	5.31 ± 1.17^{ab}	49.69 ± 4.86^{ab}	47.17 ± 5.02^a
	CF1sf	68.41 ± 1.43^a	8.97 ± 2.92^a	47.81 ± 2.88^b	46.23 ± 2.05^a

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos ($n = 3$) entre columnas.

La pérdida de firmeza en los frutos se debe a procesos precursores de la transpiración y respiración de estos antes un daño generado en algún tejido del producto que lo ocasionan microorganismos, principalmente en las manzanas los hongos. Como se muestra en la Figura 4.9, los valores se mantuvieron entre sí, siendo significativamente iguales ($p < 0.05$).

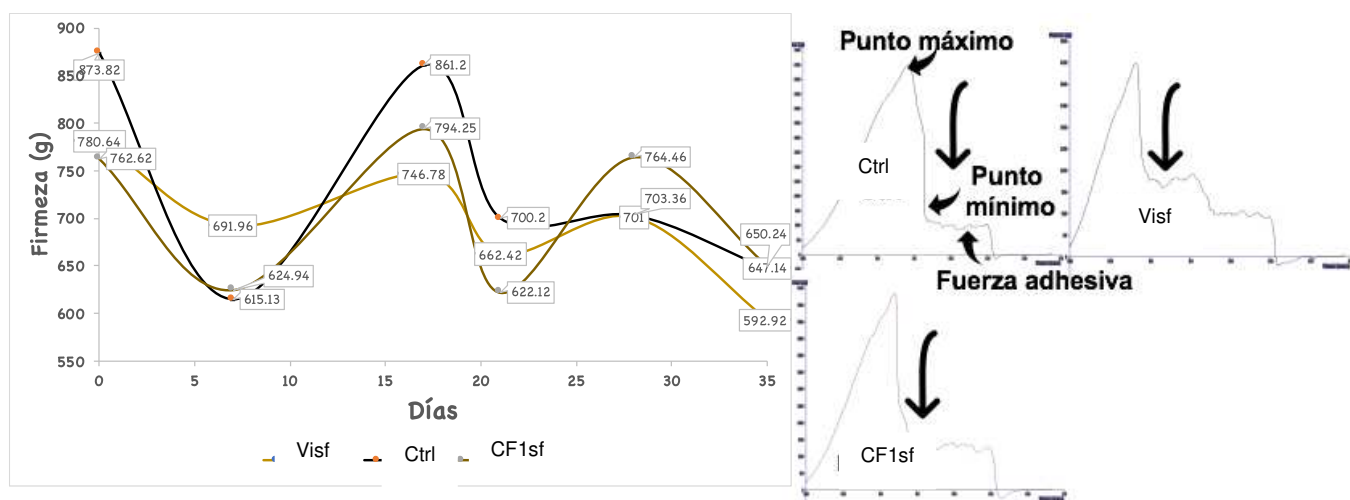


Figura 4.9. Firmeza de las manzanas entera y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.

Las manzanas cubiertas presentan valores de 592.92 g como mínimo a 873.82 g como máximo. Se determinan atributos en la manzana Golden e identificaron valores de firmeza de 8,555.41 a 9,146.85 g-fuerza durante 10 días de almacenamiento, siendo más altos a los nuestros. Por otro lado, León de Zapata *et al.*, (2018) detectaron valores de firmeza de 3,100 y 4800 g-fuerza en manzanas cubiertas con cera de candelilla. La pérdida de peso y firmeza ocurre principalmente por el proceso de transpiración después de la cosecha de la fruta (Gol *et al.*, 2013). Sin embargo, debido a la pérdida de agua durante el proceso de transpiración de la fruta, aumenta el contenido total de sólidos solubles (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009; Ochoa-Reyes *et al.*, 2013) y la actividad metabólica que resulta en la conversión de ácidos orgánicos en azúcares durante el proceso de maduración (Togrul y Arslan, 2004). Sin embargo, la interacción que hubo en el almacenamiento de las manzanas fue la estabilidad al ablandamiento, como cambios de firmeza y en la velocidad de respiración.

4.5.8. pH, Acidez titulable y Vitamina C

Los resultados de pH se registraron de 5.01 para Ctrl, 4.98 la Visf y 2.95 CF1sf en el tiempo inicial. Posteriormente se mantuvieron estables durante los días 7-35. La tendencia de los valores durante el almacenamiento de las manzanas fueron ligeramente ácidos, siendo Visf el mayor con 5.33 seguido de CF1sf con 4.95 y el mínimo 3.05 para el Ctrl. Nuestros valores fueron más altos a los reportados por Azeredo, (2004) con valores de 3.8 como máximo. Las diferencias arrojadas en el análisis entre los tratamientos se deben a la naturaleza química de los mucílagos durante su extracción e incorporación en las manzanas que fueron incrementadas positivamente. En la medida que el valor

del pH de los frutos disminuye (son más ácidos), los microorganismos tienen condiciones más difíciles para sobrevivir y crecer. Lo anterior, resulta ser benéfico para la vida útil de las manzanas.

Cuadro 4.2. Efecto de las películas con y sin mucilagos en el pH de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a 25 ± 1 °C.

DÍAS	TRATAMIENTO	pH
0	Ctrl	2.95 ± 0.18^b
	Visf	4.98 ± 0.37^a
	CF1sf	5.01 ± 0.16^a
7	Ctrl	3.51 ± 0.11^c
	Visf	5.92 ± 0.14^a
	CF1sf	4.68 ± 0.22^b
17	Ctrl	3.23 ± 0.11^c
	Visf	5.45 ± 0.16^a
	CF1sf	4.85 ± 0.15^b
21	Ctrl	3.37 ± 0.10^c
	Visf	5.69 ± 0.11^a
	CF1sf	4.76 ± 0.18^b
28	Ctrl	3.16 ± 0.13^c
	Visf	5.33 ± 0.21^a
	CF1sf	4.89 ± 0.15^b
35	Ctrl	3.05 ± 0.15^c
	Visf	5.16 ± 0.29^a
	CF1sf	0.46 ± 0.15^b

Diferentes letras indican una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos ($n = 3$) entre columnas.

La acidez total fue evaluada en las manzanas y reportada en porcentajes para conocer la presencia del ácido cítrico en los frutos (Figura 4.10). La aplicación de las películas con mucilagos en las manzanas afectó significativamente ($p < 0.05$) los valores de este parámetro, los cuales se mantuvieron a partir del día 17 entre 0.120, y 0.193 % y para el día final se obtuvieron resultados de 0.05 para el Ctrl y para los tratamientos Visf con 0.11 % y CF1sf con 0.54 %. Los tratamientos resultaron ser efectivos sobre esta variable ante la transformación de ácidos como el cítrico, málico y tartárico presentes durante la producción de etileno en las manzanas a través del tiempo de evaluación. Los mucilagos son ricos en ácido málico que pudieron inferir de forma positiva sobre la aplicación en las manzanas por ser de una fuente mordaz como el nopal. Sin embargo, autores anteriores reportaron valores más altos (0.99, 1.14 y 1.31 %) en comparación a los nuestros.

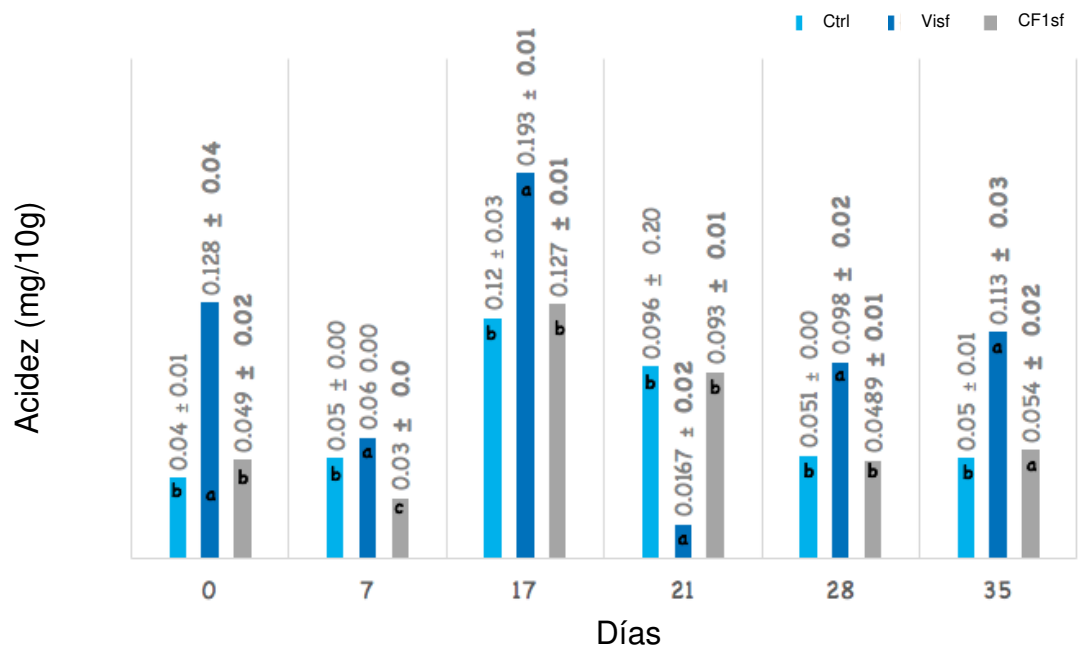


Figura 4.10. Acidez de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Los resultados del contenido de ácido ascórbico de las manzanas cubiertas y el Ctrl, se muestran en la Figura 4.11. Los valores oscilaron de 0.50 y 0.54 mg 10 g^{-1} manzana para el día inicial y para el final de 0.35, 0.39 y 0.40 mg 10 g^{-1} de manzana. Los tratamientos conservaron el comportamiento de ácido ascórbico. El ácido ascórbico se emplea para evitar el pardeamiento de frutos. Las fenolasas presentes en las manzanas oxidan a orto-difenoles y flavonoides presentes en ellas, dando orto-quinonas, de color oscuro. Por lo que, la incorporación de mucílagos ayuda a mantener estable la concentración del ácido ascórbico y otros en las manzanas. Figueroa *et al.* (2016) establecen valores de 0.07, 0.12, 0.14, 0.18 y 0.23 mg 10 g^{-1} de ácido ascórbico en manzanas tratadas con luz ultravioleta, estos valores son ligeramente más bajos en comparación con los nuestros. La concentración de ácido ascórbico que el mucílago tiene de forma natural oscila de 0.007 y 0.0076 mg g^{-1} según el reporte de Guerrero, (2014) donde mencionan que el contenido ácorbico está relacionado a muchos componentes como el ácido fólico, colina y niacina.

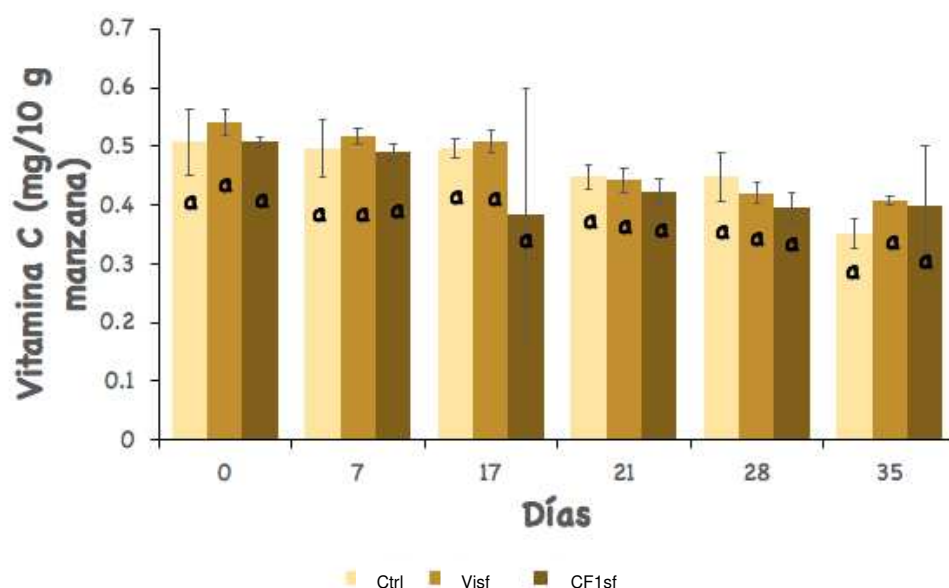


Figura 4.11. Vitamina C de las manzanas enteras y almacenadas durante 35 días a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

4.6. Conclusiones

Las películas con mucílagos de nopal hidropónicos mantienen estables las propiedades fisicoquímicas de las manzanas en una temperatura ambiental de 24 a 26°C en contraste con las películas Ctrl. Los formulados de los polímeros resultaron ser eficientes a través de inmersión para evaluar la vida de anaquel en los productos Golden delicious. La aplicación de estos materiales redujo el desarrollo de hongos y levaduras en un período de 35 días. Por lo que, la efectividad general sensorial presentó el siguiente orden: CF1sf, Ctrl y Visf.

La apariencia de las manzanas cubiertas con películas formuladas con mucílagos generaron una mayor brillantez en comparación con las que no tenían la capa de polisacáridos. Por lo que, los frutos poseían una mejor atracción al evaluador.

El cambio del IDC fue más visible en las películas Ctrl que las que contenían mucílagos debido a la reducción microbiana dada por efecto de las películas a través del tiempo. Lo anterior se debe a la mínima interacción electrostática inducida por los materiales en los frutos.

La aplicación de las películas con mucílagos en las manzanas demostró que hubo una estabilidad en la conservación de su estado debido al ajuste presentado. La R^2 observada en Ctrl fue de 0.886, 0.851 en CF1sf y 0.842 en Visf.

Los sólidos solubles totales y las coordenadas de color (L^* y a^*) se mantuvieron al inicio y al final del almacenamiento de las manzanas con la aplicación de las películas con y sin mucílagos.

Las manzanas se mantuvieron ácidas con la aplicación de películas con mucílagos.

Las películas con mucílago CF1sf y el Ctrl no fueron tan afectadas por el parámetro de acidez.

La vitamina C y la firmeza se mantuvo entre los tratamientos durante el almacenamiento (0, 7, 17, 21 y 35 días).

4.7. Bibliografía

1. A. Velázquez-Moreira y J. A. Guerrero Beltrán (2014). Algunas investigaciones recientes en recubrimientos comestibles aplicados en alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 8-2; 5-12. Universidad de las Américas Puebla. San Andrés Cholula, Puebla, México.
2. AOAC, (1984). Official methods of analysis (14th Ed.). Off. methods Anal. (14th Ed.).
3. Azeredo, H.M. 2004. Fundamentos de estabilidad de alimentos. EMBRAPA. Fortaleza, Brasil. 195 p. cactus (*Opuntia elatior* Mill.) sobre la calidad de frutos de piña minimamente procesados. Bioagro 29(2);129-136.
4. Capistrán-Carabán, A., E.N. Aquino- Bolaños, J.L. Chávez-Servia, V. Velásquez-Melgarejo, A. Vera- Guzmán, R. Viveros-Contreras y Verdalet- Guzmán (2017). Cambios en los parámetros fisicoquímicos en tomate de árbol(*Solanum betaceum*) durante su almacenamiento poscosecha a 5 o C. Avances de la ciencia en México; 1020-1027.
5. FAO (2012). Plataforma técnica sobre la medición y la reducción de las pérdidas y el desperdicio de alimentos. Düsseldorf, Alemania.
6. Gheribi, Rim, Puchot, Laura, Verge, Pierre, Jaoued-Grayaa, Najeh, Mohamed, Mezni, Habibi, Youssef and Khwaldia, Khaoula. (2018). Development of Plasticized Edible Films from *Opuntia ficus-indica* Mucilage: A Comparative Study of Various Polyol Plasticizers. Carbohydrate Polymers. 190; 204-211.
7. Henriette M.C. de Azeredo, Morsyleide F. Rosa, Maria Cléa B. Figueirêdo, Chapter 3 - Lignocellulosic-Based Nanostructures and Their Use in Food Packaging, (2018). Editor(s): Miguel Ângelo Parente Ribeiro Cerqueira, Jose Maria Lagaron, Lorenzo Miguel Pastrana Castro, António Augusto Martins de Oliveira Soares Vicente, In Micro and Nano Technologies, Nanomaterials for Food Packaging, Elsevier, pages 47-69, ISBN 9780323512718.
8. Juhnevica-Radenkova, Karina, Skudra, Liga, Skrivele, Mara, Radenkovs, Vitalijs and Seglina, Dalijs. (2014). Impact of the degree of maturity on apple quality during the shelf life.
9. Mariano Nicolás Pereyra-Nelson (2011). Desarrollo de manzana trozada minimamente procesada y determinación de vida útil. Tesis Licenciatura. Universidad de Chile
10. Miguel A. De León-Zapata, Janeth M. Ventura-Sobrevilla, Thalia A. Salinas-Jasso, Adriana C. Flores- Gallegos, Raul Rodríguez-Herrera, Lorenzo Pastrana-Castro, María Luisa Rua-Rodríguez, Cristóbal N. Aguilar (2018). Changes of the shelf life of candelilla wax/tarbrush bioactive based-nanocoated apples at industrial level conditions. Scientia Horticulturae. 231, 43-48.
11. Noshad M, Rahmati-Joneidabad M, Badvi Z. (2019). Effects of Natural Mucilage as an Edible Coating on Quality Improvement of Freshly cut apples. Nutr Food Sci Res. 6 (2) :21-27
12. Ochoa-Reyes, E., Martínez-Vazquez, G., Saucedo-Pompa, S., Montañez, J., Rojas-Molina, R., De León-Zapata, M.A., (2013). Improvement of shelf life quality of green bell peppers using edible coating formulations. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 2, 2448–2451.
13. Panhui Fan, Donald J. Huber, Zihan Su, Meijiao Hu, Zhaoyin Gao, Min Li, Xuequn Shi, Zhengke Zhang (2018).

- Effect of postharvest spray of apple polyphenols on the quality of fresh-cut red pitaya fruit during shelf life, *Food Chemistry*, 243, 19- 25.
14. Saucedo-Pompa, S., Jasso-Cantu, D., Ventura-Sobrevilla, J., Sáenz-Galindo, A., Rodríguez- Herrera, R., Aguilar, C.N., (2007). Effect of candelilla wax with natural antioxidants on the shelf life quality of fresh-cut fruits. *J. Food Qual.* 30, 823–836.
 15. Sibu C. Padmanabhan, Malco C. Cruz-Romero, Joseph P. Kerry, Michael A. Morris, Chapter 11 - Food Packaging: Surface Engineering and Commercialization (2018). Editor(s): Miguel Ângelo Parente Ribeiro Cerqueira, Jose Maria Lagaron, Lorenzo Miguel Pastrana Castro, António Augusto Martins de Oliveira Soares Vicente, In *Micro and Nano Technologies, Nanomaterials for Food Packaging*, Elsevier, Pages 301-328, ISBN 9780323512718.
 16. So-Hyang Shin, Yoonjee Chang, Monique Lacroix, Jaejoon Han, Solís C., R. E.; Rivera M., G.; Tamayo C., J. y Sauri D., E. (2008). Elaboración de un recubrimiento comestible a base de quitina para retrasar el oscurecimiento y deshidratación de manzanas cortadas en rebanadas. División de Estudios de Posgrado Instituto Tecnológico de Mérida, Yucatán. México.
 17. Tavares J.A.R. (2005). Guía de laboratorio. Determinación de vitamina C. Área Ciencias Fisiológicas, PUCMM.
 18. Togrul, H., Arslan, N., (2004). Extending shelf-life of peach and pear by using CMC from sugar beet pulp cellulose as a hydrophilic polymer in emulsions. *Food Hydrocolloids* 18, 215–226.
 19. Treviño Garza-Mayra Zulema, Árevalo Niño-Katiushka, Galán Wong-Luis J., Alanís Guzmán-Ma.Guadalupe, Heredia Rojas-Norma Laura y Flores González-Ma. Socorro (2016). Evaluación y comparación de recubrimientos comestibles a base de mucílago, quitosán y pululano en la calidad y vida de anaquel de la piña fresca cortada. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
 20. Varela P., Salvador A., Fiszman S. (2008) Shelf-life estimation of 'Fuji' apples: The behaviour of recently harvested fruit during storage at ambient conditions. *Postharvest Biology and Technology*, No. 50, p. 64–69.
 21. Vargas-Rodríguez, L., Arroyo Figueroa, G., Herrera Méndez, C. H., Pérez Nieto, A., García Vieyra, M. I., & Rodríguez Núñez, J. R. (2016). Propiedades físicas del mucílago de nopal. *Acta Universitaria*, 26 (NE-1), 8-11.
 22. Yurong Ma, Qingfeng Ban, Jingying Shi, Tiantian Dong, Cai-Zhong Jiang, Qingguo Wang (2019). 1-Methylcyclopropene (1-MCP), storage time, and shelf life and temperature affect phenolic compounds and antioxidant activity of 'Jonagold' apple. *Postharvest Biology and Technology*, 150, 71- 79.
 23. Гудковский А.В., Кожина В.Л., Балакирев А.Е., Назаров Ю.Б. (2012) Современная система хранения плодов и ягод. Перспективы развития технологий хранения и переработки плодов и ягод в современных экономических условиях, стр. 75–83.